



**Casa abierta al tiempo**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-UNIDAD  
XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTOS DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

**Proyecto de investigación: "Estudio del extracto de *Moringa oleífera* como conservador natural aplicado en una crema hidratante contra la resequedad asociada con la diabetes"**

INFORME DE SERVICIO SOCIAL

**PRESENTA:**

Hannia Ilse Quezada Gutiérrez

Matricula: 2143059065

**ASESORES:**

María Luisa de Lourdes Pérez González 22258

María Mercedes Palao Rincón 7410

2019

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. OBJETIVO</b> .....	2
2.1. Objetivo General .....	2
2.2. Objetivos Específicos .....	2
<b>3. HIPÓTESIS</b> .....	2
<b>4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	3
<b>5. JUSTIFICACIÓN</b> .....	3
<b>6. MARCO REFERENCIAL</b> .....	4
6.1. Historia de la Diabetes .....	4
6.2. DM y Epidemiología .....	5
6.3. Clasificación .....	5
6.3.1. DM insulino dependiente (DMID) o tipo 1 .....	5
6.3.2. DM no insulino dependiente (DMNID) o tipo 2 .....	6
6.3.3. Diabetes gestacional .....	6
6.3.4. Otros tipos específicos .....	7
6.4. Factores de riesgo en la ocurrencia de la DM .....	7
6.5. Complicaciones agudas y crónicas de la diabetes .....	7
6.6. Alteraciones cutáneas en la DM .....	8
6.6.1. Piel seca en diabéticos .....	9
6.7. Tratamiento de la DM .....	10
6.8. Cosmetología dérmica .....	10
6.8.1. La piel y su función .....	11
6.8.2. Fisiología de la piel .....	11
6.8.3. Farmacocinética cutánea .....	12
6.8.3.1. Absorción cutánea .....	13
6.8.3.1.1. Factores que condicionan la absorción .....	13
6.8.3.1.1.1. Biológicos .....	13
6.8.3.1.1.2. Físicoquímicos .....	14

6.8.3.1.1.3. Interacción Dermocosmético-piel .....	14
6.8.3.1.1.4. Otros factores .....	14
6.9. Microbiota de la piel humana .....	14
6.9.1. Microbiota residente cutánea .....	14
6.9.2. Microbiota transitoria cutánea .....	15
6.10. Preparaciones semisólidas .....	15
6.10.1. Crema Hidratante .....	15
6.10.1.1. Emulsiones W/O ó O/W .....	16
6.11. Contaminación microbiana en las cremas .....	17
6.11.1. Conservantes cosméticos .....	17
6.11.2. Mecanismo de acción de los conservadores cosméticos .....	18
6.11.2.1. Agentes que dañan la membrana celular .....	19
6.11.2.2. Agentes desnaturalizantes de proteínas .....	19
6.11.2.3. Agentes modificadores de grupos funcionales .....	19
6.11.3. Fenoxietanol .....	19
6.11.4. Test de Eficacia .....	20
6.12. Principales Patógenos en Emulsiones .....	20
6.12.1. <i>Escherichia coli</i> .....	20
6.12.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
6.13. <i>Moringa Oleífera</i> .....	21
6.13.1. Antecedentes y taxonomía .....	21
6.13.2. Descripción botánica .....	22
6.13.3. Origen y distribución .....	22
6.13.4. Composición fotoquímica y aspectos nutricionales .....	23
6.13.5. Usos medicinales .....	24
6.13.6. <i>Moringa</i> y la piel .....	25
6.13.7. Evaluación antimicrobiana .....	26
6.13.8. Otras aplicaciones .....	27
6.14. Extractos .....	27
6.14.1. Definición .....	27

6.14.2. Clasificación de los extractos vegetales .....	27
6.14.3. Estabilidad de los extractos .....	27
6.14.3.1. Estabilidad del extracto acuoso .....	28
<b>7. METODOLOGÍA .....</b>	<b>28</b>
7.1. Obtención del extracto acuoso .....	28
7.2. Almacenamiento y acondicionamiento .....	28
7.3. Obtención y preparación del inóculo (Reactivación de las cepas) .....	28
7.4. Determinación del efecto antimicrobiano mediante la prueba de antibiograma .....	29
7.4.1. Antibiograma 1 .....	29
7.4.2. Antibiograma 2 .....	30
7.4.3. Antibiograma 3 .....	31
7.5. Diseño factorial de múltiples niveles .....	32
7.5.1. Metodología de fabricación de una formulación base hidratante O/W .....	34
7.5.2. Metodología de fabricación de una formulación hidratante O/W .....	34
7.6. Pruebas de estabilidad .....	35
7.6.1. Características Organolépticas .....	35
7.6.2. Evaluación física .....	35
7.6.3. Determinación del signo de emulsión O/W ó W/O .....	36
<b>8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
8.1. Prueba microbiológica .....	36
8.2. Formulación de la crema hidratante O/W .....	41
8.3. Pruebas de estabilidad .....	43
8.3.1. Características organolépticas .....	43
8.3.2. Evaluación física .....	43
8.3.3. Determinación del signo de emulsión O/W ó W/O .....	44
<b>9. CONCLUSIÓN .....</b>	<b>44</b>
<b>10. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>45</b>
<b>11. REFERENCIAS .....</b>	<b>45</b>
<b>12. ANEXOS .....</b>	<b>50</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. La insulina es una hormona que regula el azúcar en la sangre. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (aumento de glucosa en la sangre), que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos (OMS, 2017).

Hay 3 tipos principales de diabetes: "Diabetes tipo 1", en esta enfermedad, el cuerpo no produce o produce poca insulina, se necesitan inyecciones de insulina, la siguiente es "Diabetes tipo 2" es mucho más común, aquí el cuerpo es resistente a la insulina o no la utiliza con la eficacia que debería, la tercera es "Diabetes gestacional" es el nivel alto de azúcar en la sangre que se presenta en cualquier momento durante el embarazo y otros tipos específicos como defectos genéticos en la función de las células B (antes MODY), efectos genéticos de la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exócrino, endocrinopatías, diabetes inducida por drogas o agentes químicos, infecciones, formas no comunes de diabetes inmunomediada y otros síndromes genéticos ocasionalmente asociados con la diabetes (Cohen E., Cabo H. y Puchulu F., 2013) (Figuerola, D., 1990).

La DM afecta prácticamente todo el organismo, incluyendo la piel, ocasionando alteraciones bioquímicas que radican en muchas manifestaciones cutáneas. Dichas manifestaciones pueden aparecer en el transcurso de una DM conocida o constituir la primera manifestación de la DM aún no diagnosticada (Islas, 2014).

Existen marcadores específicos como la dermatopatía diabética, manifestaciones cutáneas de las complicaciones como la microangiopatía, infecciones, manifestaciones por el tratamiento y manifestaciones asociadas como la piel seca (Fuentes A. y Mondragón M., 2015).

La piel seca a pesar de no ser una condición específica de la diabetes es una molestia muy común entre la población con diabetes (Fuentes A. y Mondragón M., 2015). Cuando los niveles de glucosa en la sangre son altos, hay menor cantidad de líquido en el cuerpo, y la piel puede ponerse seca produciendo comezón y al rascarse puede causar dolor y por consiguiente se puede partir, esto puede ser una problemática, ya que los hace más susceptibles a padecer problemas de salud aún más serios, tales como infecciones bacterianas (Fuentes A. y Mondragón M., 2015).

La cosmética dérmica o dermatocosmética es la asociación de dos ramas de la ciencia que incluyen la investigación y avances tecnológicos de la Dermatología y

la Cosmética. Cubre necesidades de la piel que presentan cambios y brinda la tolerancia de un producto que se puede aplicar en forma diaria como es el caso de las cremas (Schvartzman, S. y Cestilli, M., 2013).

La mayoría de las formulaciones cosméticas son productos que pueden sufrir contaminación microbiológica por diferentes orígenes: materias primas, medio ambiente, equipo de fabricación, equipo de envasado, mala manipulación por parte del personal de fabricación, e inadecuada utilización por parte del consumidor (Castelli, Cozzi, López y Derita, 2015); éste empieza su deterioro manifestado principalmente por la producción de olores desagradables o bien cambios en su consistencia. Además, la presencia de los microorganismos puede ocasionar ruptura de la emulsión en el caso de las cremas y alteración en las propiedades reológicas como es la pérdida de su textura. Para evitar entonces la contaminación de los productos cosméticos y aumentar su duración, se les añaden agentes conservadores (Vega, M., 2015).

## **2. OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo General**

Estudiar del extracto de *Moringa oleífera* como conservador natural aplicado en una crema hidratante contra la resequedad asociada con la diabetes.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto de *Moringa oleífera* en 2 bacterias patógenas *Staphylococcus aureus* y *Echerichia coli*.
- Formular una crema hidratante empleando un conservador natural, *Moringa oleífera*, en emulsiones del tipo *OW*.
- Seleccionar por Diseño Factorial la formulación más estable.
- Someter a estabilidad la formulación almacenada en temperatura ambiente oscuridad y 40°C.

## **3. HIPÓTESIS**

El extracto de *Moringa oleífera* tendrá un efecto conservador en cremas hidratantes *OW* contra *Staphylococcus aureus* y *Echerichia coli*.

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los efectos colaterales por el contacto de cosméticos con conservadores químicos es un problema dermatológico frecuente, creciente, con un gran impacto en la calidad de vida de los consumidores, específicamente los parabenos. En las últimas décadas estos compuestos se han utilizado ampliamente en cosméticos, sin embargo, se relaciona con daños a la salud por ejemplo dermatitis.

Insertándose dentro del campo de la cosmética dérmica se busca indagar sobre la posibilidad de encontrar un efecto conservador del extracto de *Moringa oleífera*, aplicada una crema hidratante O/W con el objetivo de presentarse como alternativa o sustituto a conservadores químicos.

¿La determinación de la concentración mínima inhibitoria podrá verificar el efecto conservador de la *Moringa* contra *Staphylococcus aureus* y *Echerichia coli*, que permita una mejor seguridad?

#### 5. JUSTIFICACIÓN

La DM es una enfermedad con complicaciones crónicas que afecta la calidad de vida de las personas. Esta enfermedad afecta prácticamente todo el organismo, incluyendo la piel, ocasionando alteraciones bioquímicas que pueden presentar manifestaciones cutáneas, como por ejemplo la piel seca.

La piel seca a pesar de no ser una condición específica de la diabetes es una molestia muy común entre la población con diabetes y es susceptible a padecer infecciones bacterianas. Por este motivo es importante prevenir, identificar y tratar la piel seca, su corrección cosmética está dada por el aporte de sustancia emolientes y humectantes que permiten cubrir la superficie cutánea. La rugosidad, la sensación de fragilidad y sequedad se mejora con la acción cosmética permanente.

La presente investigación tiene como objetivo elaborar una crema hidratante para el tratamiento cutáneo de DM empleando un conservador natural de *Moringa oleífera*. Desarrollado en el laboratorio G-111 del edificio "N" de la UAM-Xochimilco. El trabajo pretende responder y aportar más información sobre las propiedades antibacterianas presentes en dicha planta, y la eficacia que tiene el uso de plantas medicinales en el tratamiento cutáneo.

Las bacterias trabajadas fueron *E. coli* (Gram negativa) y *S. aureus* (Gram positiva), estas se utilizaron ya que son algunos de los microorganismos patrón utilizados en la Industria Cosmética en la prueba "*Challenge Test*", donde se comprueba

experimentalmente que el producto cosmético es capaz de evitar la contaminación bacteriana.

## **6. MARCO REFERENCIAL**

### **6.1 Historia de la diabetes**

La DM se deriva del significado griego, el término *diabetes* significa ("pasar a través") y *mellitus* (enmelado o dulce). Esto es porque el exceso del azúcar (glucosa) se encuentra en sangre, así como la orina. Era conocido en el siglo XVII como "*pissing mal*" (Figuerola, D., 1990).

En 1862, Georg Ebers descubrió en una tumba de Tebas, en Egipto un pequeño papiro donde describe una enfermedad que se caracteriza por la abundante emisión de orina, sed y adelgazamiento. Hasta hoy el papiro de Ebers constituye a la primera referencia histórica de la diabetes, hace nada menos que 3500 años (Rosas, J., 2009).

Galeno, en el siglo II, interpretó que la diabetes era producida por la incapacidad del riñón para retener agua, y esta idea, en cierto modo errónea, persistió durante 15 siglos, ya que hasta el siglo XVI puede decirse que la medicina, mezcla por aquel entonces entre filosofía y algunas observaciones clínicas, progresó muy poco. El estudio experimental de la diabetes empieza con Von Hohenheim, que alrededor de 1520 evapora la orina y describe un residuo salino, interpretando que la diabetes es causada por una enfermedad del riñón, en la cual se extrae una excesiva cantidad de sal del organismo (Rosas, J., 2009).

No fue sino hasta 1775 que Mathew Dobson descubrió que el sabor dulce de la orina era debido a la presencia de azúcar, comprobando igualmente que dicho azúcar también se encontraba en la sangre de los pacientes diabéticos. Donbson concluyó que la pérdida de peso y fuerza era la consecuencia de la pérdida de material nutritivo por la orina (Figuerola, D., 1990).

En 1869, Paul Langerhans realizó su tesis sobre histología del páncreas, en donde describió unos grupos de células en forma de pequeñas islas, independientes del resto de la estructura de la glándula, sin embargo, no se les asignó una función endocrina hasta 1889 cuando persistía la discusión sobre si el páncreas era o no necesario para la vida, fue von Mering y Minkowsky que descubrieron que el páncreas es el principal responsable de la diabetes con ayuda de pancreatomecías en animales (Figuerola, D., 1990).

En 1921 los médicos e investigadores Frederik Grant Banting y Charles Best descubrieron la hormona de la insulina y su relación con la presencia de la



diabetes a partir de una serie de experimentos con perros en un laboratorio de la Universidad de Toronto (Rosas, J., 2009).

En 1997, después de dos años de revisión entre expertos de la OMS y la Asociación Americana de Diabetes (ADA), se dio a conocer una nueva clasificación: DM tipo 1, DM tipo 2, diabetes gestacional y otros tipos específicos (Figuerola, D., 1990).

## **6.2 DM y Epidemiología**

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. La insulina es una hormona que regula el azúcar (glucosa) en la sangre. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (aumento del azúcar en la sangre), que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos (OMS, 2017).

La DM y sus comorbilidades constituyen actualmente la principal causa de preocupación en la salud pública en la mayoría de los países occidentales, sobre todo en los países latinoamericanos y los asiáticos donde la prevalencia es alrededor de 10%, del cual el 90% corresponde a la diabetes tipo 2 y el resto se atribuye entre los diferentes tipos de diabetes y la décima parte de los países con las mayores prevalencias se encuentran en esas regiones (Rosas, J., 2009). De acuerdo con la OMS, es una de las 10 principales causas de defunción en el mundo y hay más de 180 millones de personas con diabetes siendo probable que esta cifra aumente a más del doble en el 2030.

## **6.3 Clasificación**

### **6.3.1 DM insulino dependiente (DMID) o tipo 1**

La DM tipo 1 está caracterizada por el comienzo brusco de síntomas graves asociados con el déficit absoluto de secreción de insulina, por lo que tienen una dependencia a la insulina exógena para mantener la vida. Aparece generalmente antes de los 30 años, aunque puede producirse en cualquier momento de la vida (Cohen E., Cabo H. y Puchulu F., 2013).

La diabetes tipo 1, se caracteriza por la destrucción de los islotes pancreáticos de células beta e insulinopenia total por lo que los individuos presentan la tendencia hacia la cetosis en condiciones basales. Es una de las enfermedades crónicas más frecuentes de la infancia cuya incidencia está aumentando, especialmente en niños menores de 5 años; afecta de manera importante la salud de la población, sobre todo a través de sus complicaciones crónicas o a largo plazo, que provocan una morbilidad frecuente y disminuyen de forma significativa las expectativas de vida (Hayes, J., 2008).

Se ha clasificado en dos tipos: “Diabetes inmunomediada”, en la que la destrucción de las células beta produce la deficiencia absoluta de insulina y “diabetes idiopática”, tiene una importante carga hereditaria y carece de evidencias inmunológicas para autoinmunidad celular (Cohen E., Cabo H. y Puchulu F., 2013).

### **6.3.2 DM no insulino dependiente (DMNID) o tipo 2**

Es un trastorno metabólico que se caracteriza por que el cuerpo no produce suficiente insulina o las células no hacen uso de la insulina. Su comienzo es insidioso por la falta de síntomas, por lo que es común desconocer la presencia de la enfermedad (Reyes, F., et al., 2016).

Aparece después de los 40 años, con un máximo de frecuencia alrededor de los 60, aunque no es excepcional su prevalencia en jóvenes. Su prevalencia se estima entre los 20 y 30 (Figuerola, D., 1990).

En la etiopatogenia de la DMNID dos factores son considerados como responsables de la aparición de la enfermedad: insulinoresistencia y la insuficiencia de insulina. La insulinoresistencia presenta dos factores determinantes que son el genético, sobre el cual no se puede intervenir y el ambiental, que está influido por los hábitos de la vida, alimentación sedentarismo, sobrepeso, medicación, etc. (Cohen E., Cabo H. y Puchulu F., 2013).

### **6.3.3 Diabetes gestacional**

La DM gestacional (DMG) se define como una intolerancia a la glucosa, de severidad variable, que se diagnostica por primera vez durante el embarazo. La DMG no es causada por la carencia de insulina, sino por el incremento de hormonas que producen efectos bloqueadores sobre la producción de insulina durante el embarazo, condición que es denominada resistencia a la insulina y que se presenta generalmente a partir de la vigésima semana de gestación (Ríos, W., et al., 2013).

Tiene una prevalencia del 7% con un rango que va de 1% al 14%. Para el diagnóstico se efectúa la prueba de tolerancia oral a la glucosa entre la semana 24 y 28 de embarazo; en el caso de ser negativa y de presentar factores de riesgo, se repite el estudio entre la semana 31 y 33. Algunos factores de riesgo son antecedentes de diabetes gestacional en embarazo anterior, edad mayor a 30 años, síndrome de poliquistosis ovárica, preeclampsia, utilización de fármacos hiperglucemiantes y antecedentes de diabetes en familiares de 1° grado (Cohen E., Cabo H. y Puchulu F., 2013).

### **6.3.4 Otros tipos específicos**

Existen otros tipos de diabetes poco usuales que se llegan a presentar por defectos genéticos en la función de las células B (antes MODY), defectos genéticos de la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exócrino, endocrinopatías, inducida por drogas o agentes químicos, infecciones, formas no comunes de diabetes inmunomediada y otros síndromes genéticos ocasionalmente asociados con la diabetes Cohen E., Cabo H. y Puchulu F., 2013).

### **6.4 Factores de riesgo en la ocurrencia de la DM**

Los factores de riesgo son la probabilidad que tiene un individuo o una población de enfermarse si se expone a dicho factor en este caso la DM y que, una vez que desarrollan la enfermedad, la probabilidad de presentar complicaciones crónicas o de fallecer es también mayor, algunos factores son: edad y género, la mayoría de los estudios muestra que la incidencia de la DM aumenta con la edad, en cuanto al género no se han establecido patrones claros de comportamiento, sin embargo, en términos generales se dice que la enfermedad es un poco más frecuente en mujeres que en hombres. Otro factor es la raza, la incidencia de la diabetes tipo 1 es un poco mayor en blancos, mientras la ocurrencia de la diabetes tipo 2 es mayor en la población negra o de descendencia hispana. La obesidad es uno de los factores más significativos para el desarrollo de la diabetes tipo 2, aunque no se relaciona con la diabetes tipo 1. Cerca de dos terceras partes de los diabéticos son obesos al momento del diagnóstico. Otras probabilidades de presentar DM son los factores de riesgo metabólico, hiperlipidemia con el aumento sérico de colesterol, lipoproteínas de muy baja densidad y triglicéridos (Islas, S., 2014).

### **6.5 Complicaciones agudas y crónicas de la diabetes**

Las complicaciones agudas son potencialmente reversibles, se pueden presentar en el paciente diabético como cetoacidosis diabética (trastorno metabólico, causado por una deficiencia casi absoluta de insulina, en lugar de esto se utiliza la grasa), estado de hipertonicidad no cetósica (complicaciones especialmente para tipo 2, se caracteriza por una hiperglucemia superior a los 600 mg/dl), hipoglucemia (disminución de la cantidad normal de glucosa en la sangre) y acidosis láctica (afección que se presenta cuando el ácido láctico se acumula en el torrente sanguíneo más rápido de lo que puede ser eliminado) (Islas, 2014). Los diabéticos son susceptibles de infecciones, especialmente urinarias, las cuales deben ser cuidadosamente tratadas y prevenidas (Figuerola, D., 1990).

Las complicaciones crónicas son aquellas alteraciones de los tejidos del organismo que afectan de manera más o menos específica a las personas diabéticas. Estas lesiones son por regla general irreversibles y su causa no es totalmente conocida, aunque la hiperglucemia crónica constituye posiblemente el principal factor

desencadenante. Estas complicaciones se suelen clasificar en tres grupos. Microangiopáticas (afectación de los pequeños vasos de la circulación), Macroangiopáticas, (afectación de los grandes vasos) y Neuropáticas (afectación del sistema nervioso). Entre las complicaciones microangiopáticas están la retinopatía diabética, que produce lesiones características de la retina y puede reducir la visión e incluso producir ceguera, y la nefropatía diabética, que puede producir insuficiencia renal.

La macroangiopáticas no es más que la arterioesclerosis, que puede producirse a cualquier nivel (coronarias circulación cerebral, etc.) pero es más frecuente en extremidades inferiores, donde puede ser responsable de la gangrena húmeda cuando coexiste una infección.

La neuropatía puede dar lugar a trastornos en la sensibilidad al dolor y a la temperatura especialmente en extremidades inferiores, y con menor frecuencia, a parálisis motoras a cualquier nivel que en general son reversibles. Cuando la afectación nerviosa se sitúa en el sistema vegetativo, puede ser responsable de anomalías en la regulación de la tensión arterial, de diarreas graves y de impotencia sexual entre otros trastornos (Figuerola, D., 1990).

## **6.6 Alteraciones cutáneas en la DM**

La DM afecta prácticamente todo el organismo incluyendo la piel, ocasionando alteraciones bioquímicas que radica en muchas manifestaciones cutáneas. Dichas manifestaciones pueden aparecer en el transcurso de una DM conocida o constituir la primera manifestación de la DM aún no diagnosticada. Del mismo modo que con otras complicaciones de la DM tales como retinopatía y nefropatía, las manifestaciones cutáneas son el resultado de los efectos combinados de la hiperglucemia, neuropatía, microangiopáticas y alteraciones inmunes del huésped (Islas, S., 2014).

Se estima que el 30% de los pacientes diabéticos presentan manifestaciones cutáneas en el transcurso de la enfermedad si a esto se les agregan las lesiones debidas a complicaciones frecuentes, como la vasculopatía y la neuropatía, esta cifra aumentaría al 100% durante el curso de la misma (Cohen E., Cabo H. y Puchulu F., 2013).

Las infecciones cutáneas son más comunes en diabetes tipo 2 mientras que las lesiones autoinmunes son más comunes en el tipo 1. Si bien los diabéticos de larga data son los que más desarrollan problemas cutáneos devastadores, también estos pueden aparecer en el corto plazo (Cohen E., Cabo H. y Puchulu F., 2013).

Existen marcadores específicos como la dermatopatía diabética, manifestaciones cutáneas de las complicaciones como la microangiopatía, infecciones, bacterianas,

manifestaciones por el tratamiento y manifestaciones asociadas como la piel seca (Fuentes A. y Mondragón M., 2015).

### **6.6.1 Piel seca en diabéticos**

La piel seca se caracteriza por una perturbación del proceso descamativo como consecuencia de alteraciones en la composición y organización de los lípidos intercelulares, lo que a su vez reduce la capacidad de retención hídrica del estrato córneo (Hernández, N., et al, 2011).

A pesar de no ser una condición específica de la diabetes es una molestia muy común entre la población con diabetes (Fuentes A. y Mondragón M., 2015). En un estudio publicado en la revista médica de Chile mostró que la piel seca fue la alteración más frecuente (50%) en pacientes con diabetes tipo 2 (Ibarra, C., et al, 2012).

Estos pacientes tienen menor hidratación y producción de grasa, lo cual aunado a la neuropatía diabética provoca alteraciones en la microcirculación y en la actividad de las glándulas sudoríparas (Fuentes A. y Mondragón M., 2015).

Los altos niveles de glucosa y el daño a los nervios normalmente conducen al desarrollo de esta afección irritante de la piel, por lo regular se reseca la piel de las piernas, de los pies, de los codos, entre otros tejidos. De igual manera disminuyen la capacidad de los glóbulos blancos (leucocitos) para combatir las infecciones. (Diabetes, N. and Clearing house, l. s/f). Cuando los niveles de glucosa en la sangre son altos, hay menor cantidad de líquido en el cuerpo y la piel puede ponerse seca produciendo comezón y al rascarse puede causarle dolor y se puede partir, esto puede ser un problema, ya que los hace más susceptibles a padecer de problemas de salud aún más serios, tales como infecciones bacterianas Fuentes A. y Mondragón M., 2015).

El daño a los nervios puede reducir la cantidad de sudor, esta reducción puede secar la piel en las piernas y los pies. Por esta razón, es importante prevenir, identificar y tratar la piel reseca (Diabetes, N. and Clearing house, l. s/f).



Figura 1. Piel seca de un diabético (Tomada de Cosmetologaschile.com 2016)

### **6.7 Tratamiento de la DM**

La Secretaría de Salud en México ha hecho grandes esfuerzos para optimizar los servicios, desarrollando Unidades Médicas Especializadas (UNEMES) con equipos multidisciplinarios, aportando educación a los pacientes, también ayuda en la solución de obstáculos que limitan la adherencia al tratamiento y programas que involucran a la familia en los cuidados de estos pacientes; el tratamiento se establece utilizando protocolos estandarizados y vigilancia, así como evaluación objetivas de los resultados, que se esperan disminuyan costos y establezcan datos que permitan optimizar los procedimientos (OMS, 2017).

Otra solución parece estar en evitar el escenario que da origen a estas alteraciones en una etapa temprana de la vida, modificando hábitos de alimentación y promoviendo el aumento de la actividad física.

El uso oportuno de insulina en pacientes con diabetes tipo 2 se ha provocado el desarrollo de medicamentos y análogos de insulina que han permitido controlar mucho mejor a los pacientes con diabetes, aunque estos sean de alto costo y solo accesibles para un sector de la población (Rosas J, Lyra R. y Cavalcanti N., 2009). Por otro lado, en el tratamiento de piel seca requiere de controlar la glucosa, mantener limpia la piel, evitar rascarse (Diabetes, N. and Clearing house, I. s/f) y su corrección cosmética está dada por el aporte de sustancia emolientes y humectantes que permiten cubrir la superficie cutánea. La rugosidad, la sensación de fragilidad y sequedad se mejora con la acción cosmética permanente (Rosas J, Lyra R. y Cavalcanti N., 2009).

### **6.8 Cosmetología dérmica**

La cosmética dérmica o dermatocosmética es la asociación de dos ramas de la ciencia que incluye la investigación y avances tecnológicos de la Dermatología y la Cosmética. Cubre necesidades de una piel que presenta cambios y brinda la tolerancia de un producto que se puede aplicar en forma diaria (Schvartzman, S. y Cestilli, M., 2013).

Está destinado a la aplicación y absorción sobre la superficie de la piel, tiene tres objetivos fundamentales: local en alteraciones en la piel, el mantenimiento de las condiciones fisiológicas o estéticas y la protección contra agentes externos como las radiaciones solares (Flores, J., et al., 2008).

Para entender la cosmetología dérmica se hará un resumen de la fisiología de la piel y factores que condicionan su penetración.

### **6.8.1 La piel y su función**

La piel es la cubierta externa del cuerpo humano que abarca una superficie de alrededor de 2 m<sup>2</sup> y tiene un peso de entre 4.5 - 5 kg, lo cual equivale aproximadamente al 16% del peso corporal. Se trata de uno de los órganos más importantes no solo por su tamaño sino por sus funciones, entre las que destacan su actividad como barrera contra agresiones mecánicas, químicas y ante microorganismos en especial patógenos y la radiación; también participa en la regulación de la temperatura corporal y actúa como sistema de comunicación con el entorno. Además, la piel es esencial para el mantenimiento del equilibrio de fluidos corporales, el equilibrio térmico y la transmisión de una gran cantidad de información externa que accede al organismo por el tacto, la presión, temperatura y receptores del dolor (Tortora y Derrickson, 2007).

### **6.8.2 Fisiología de la piel**

La piel se divide en tres capas de tejido: La epidermis, dermis e hipodermis (véase figura 2). La primera es un epitelio plano poliestratificado y queratinizado que cubre la totalidad de la superficie corporal. Contiene cuatro tipos principales de células, queratinocitos, melanocitos (encargadas de la síntesis de la melanina), células de Langerhans (forman parte del sistema inmunitario) y las células de Merkel (transmiten información de tacto), siendo los queratinocitos los que se encuentran en una mayor proporción representando el 90 % del total. Es la capa de la piel con mayor número de células. La epidermis está compuesta por cinco diferentes estratos:

- Estrato córneo (*stratum corneum*), el cual contiene de 25 a 30 hileras de queratinocitos muertos, aplanados y totalmente deshidratados. Tiene un grosor variable en función de la región anatómica (entre 10 y 50 µm).
- Estrato lucido (*stratum lucidum*), Estrato de transición entre los queratinocitos profundos de actividad vital y las células superficiales cornificadas y muertas. Presenta acidofilia intensa.
- Estrato granular (*stratum granulosum*), este estrato presenta de 3 a 5 capas de queratinocitos aplanados, estas células contienen la proteína queratohialina y gránulos lamelares, que liberan una secreción rica en lípidos repelente del agua y presenta basifilia.

- Estrato de células espinosas (*stratum spinosum*), tiene 8 ó 10 capas de queratinocitos multifacéticos con haces de tonofilamentos; incluye las proyecciones de melanocitos y células de Langerhans. Presenta basifilia intensa.
- Estrato basal (*stratum basale*). Es la capa más profunda y está constituida por una sola hilera de queratinocitos cuboides o cilíndricos; las células madre se divide para producir nuevos queratinocitos constantemente (Tortora y Derrickson 2007).

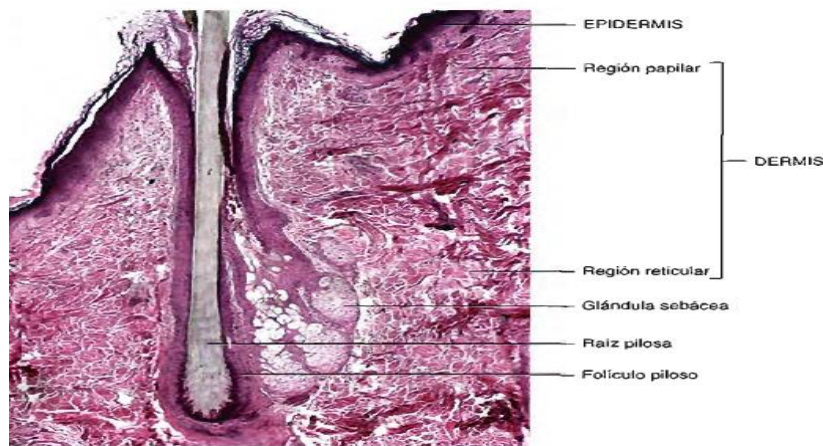


Figura 2. Estructura de la piel (Tomada de Tortora y Derrickson, 2007).

La siguiente capa es la dermis la cual es la estructura de soporte de la piel y le proporciona resistencia, elasticidad y es el sitio donde se produce la mayor parte de la absorción sistémica de los fármacos aplicados sobre la piel (Goodman y Gillman, 2007). Está formada básicamente de tejido conectivo fibroelástico, vasos sanguíneos, nervios, glándulas y folículos pilosos, histológicamente, se divide en dos capas: La capa papilar (*stratum papillare*), porción superficial de la dermis y la capa reticular (*stratum reticulare*), porción más profunda de la dermis como se muestra es la figura 2 (Tortora y Derrickson, 2007).

Debajo de la dermis reticular se ve el panículo adiposo, que tiene un espesor variable, también llamado hipodermis. Sus principales funciones son protección contra traumatismos, aislante del frío, reservorio nutricional y de energía. El grosor de la capa de tejido adiposo y su tejido conjuntivo laxo asociado varía según la región, edad y sexo (Tortora y Derrickson, 2007).

### 6.8.3 Farmacocinética cutánea

Es imprescindible conocer las propiedades farmacocinéticas cutáneas de los principios activos incorporados a las preparaciones dermatológicas, ya que en unas ocasiones se desea que la acción se desarrolle sólo en las estructuras cutáneas



mientras que en otras se busca que el efecto se produzca a distancia (Flores, J., et al, 2008).

### **6.8.3.1 Absorción cutánea**

La absorción es el paso de los preparados dermatológicos a través de las estructuras cutáneas, pero para tener eficacia deben penetrar en los tejidos apropiados. Las moléculas penetran por tres vías:

- A través de los corneocitos de la capa córnea (vía transcelular) depende del tamaño de los corneocitos y es la vía principal de penetración.
- A través de los espacios intercorneocitarios; sólo representa el 5% del volumen de la capa córnea, por lo que su participación en la absorción es mínima.
- A través de los anejos cutáneos; también de escasa contribución (Flores, et al., 2008).

Por lo que la vía transcelular directa es la vía de mayor importancia en cuanto a la penetración a través de la vía intercelular los espacios intercelulares están llenos de lípidos que forman una bicapa con una zona lipófila y otra hidrófila: por ello, esta vía sólo puede ser atravesada por sustancias que posean una liposolubilidad adecuada. Existe una relación entre el tamaño de los corneocitos y la permeabilidad, de tal modo que, para un espesor de capa córnea determinado, la permeabilidad puede aumentar si los corneocitos disminuyen de tamaño. Ello es así porque los espacios intercelulares serían mayores (Flores, J., et al, 2008).

Los usos correctos de los agentes tópicos obligan a identificar y conocer los factores que influyen en la absorción cutánea (Goodman y Gillman 2007).

#### **6.8.3.1.1 Factores que condicionan la absorción** (García, R., Escario E. y Sánchez A., 2004)

##### **6.8.3.1.1.1 Biológicos:**

- Edad: a mayor edad menor absorción.
- Región corporal: en zonas con poco grosor de piel la absorción será menor.
- Condiciones de la piel: grado de hidratación, traumas y enfermedades cutáneas. A mayor grado de hidratación la absorción será mayor.
- Embarazo: existe una mayor hidratación y una mayor irrigación sanguínea.
- pH: condiciona el grado de ionización.

#### **6.8.3.1.1.2 Fisicoquímicos:**

- Tamaño de partícula: a menor tamaño de partícula mejor absorción, el peso molecular debe estar por debajo de los 1000 kDa (kilodalton).
- Solubilidad: mientras mayor sea su solubilidad en agua más rápida será su absorción mediante canales acuosos.
- Carga del principio activo: principios activos cargados (ionizados) se repelerán debido a la carga de la membrana.
- Concentración: a mayor concentración mayor absorción.
- pH: se busca un equilibrio, dado que la fracción no ionizada se absorbe con mayor facilidad.

#### **6.8.3.1.1.3 Interacción Dermocosmético-piel**

- Permanencia en la piel: mientras mayor tiempo de permanencia mayor absorción.
- Superficie: a mayor superficie de contacto mayor absorción.
- Masajes: la aplicación de masajes puede aumentar la capacidad de absorción.

#### **6.8.3.1.1.4 Otros factores**

- Condiciones ambientales: todas las condiciones que tiendan a disminuir la hidratación.
- Práctica clínica: Cantidad de producto que se aplica, frecuencia de aplicación, tiempo de exposición y forma de aplicación.
- Aumento de la viscosidad: garantizando un mayor tiempo de retención en la superficie cutánea.

### **6.9 Microbiota de la piel humana**

En la superficie cutánea cohabitan bacterias, hongos y parásitos que, en condiciones normales, constituyen un complejo ecosistema en permanente interacción con el huésped. Generalmente se divide en dos grupos, microbiota residente y microbiota transitoria (Patiño, L., 2013).

#### **6.9.1 Microbiota residente cutánea**

La microbiota residente está conformada por dos grupos relativamente fijos de bacterias que se encuentran habitualmente en la piel: un grupo mayor conformado por bacterias corineiformes y por estafilococos, y un grupo menor conformado por micrococos y *Acinetobacter spp* (Patiño, L., 2013). Las bacterias residentes a menudo se consideran comensales y mutualistas, lo que significa que no son dañinas y pueden representar un beneficio para el huésped. Sin embargo, algunas

de ellas tienen un gran potencial patógeno cuando aumentan su biomasa o cuando no se encuentran en su flora nativa, principalmente las del grupo *Acinetobacter*, como *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* y *Pseudomonas spp* (Patiño, L., 2013).

### **6.9.2 Microbiota transitoria cutánea**

Las bacterias transitorias no se establecen de forma permanente en la superficie de la piel, pero pueden persistir durante horas o días. Generalmente, no son patógenas en condiciones normales: con una higiene adecuada, una respuesta inmunitaria normal y una función de barrera cutánea preservada. Está conformada principalmente por bacterias Gram positivas, como estreptococos del grupo A, *S. aureus* y cocos del género *Neisseria* (Patiño L., 2013).

### **6.10 Preparaciones semisólidas**

Son preparaciones de consistencia semisólida que contiene él o los principios activos destinadas a la aplicación sobre la piel con el objetivo de ejercer una acción local (FEUM, 2017). Normalmente los vehículos son de tres tipos: líquidos sólidos y semisólidos (Flores, et al., 2008). En este último se encuentran principalmente pomadas, geles, pastas y cremas. Las cremas son termodinámicamente inestables y en la interfase se encuentra uno o varios agentes emulsificantes que las mantiene estables desde el punto de vista cinético mediante dos mecanismos: disminución de la tensión interfacial y otorgamiento de rigidez a la película que rodea las gotas (Márquez, A., 2005).

#### **6.10.1 Crema Hidratante**

Las cremas son emulsiones, en donde se presenta un sistema heterogéneo, constituido de dos líquidos no miscibles entre sí; en el que la fase dispersa está compuesta por pequeños glóbulos distribuidos en el vehículo en el cual son inmiscibles. La fase dispersa se conoce también como interna y el medio de dispersión se conoce como fase externa o continua (FEUM, 2017).

Una crema hidratante contiene en su formulación un agente humectante, que es una sustancia capaz de retener la humectación en las capas superiores de la epidermis, previniendo a la vez su evaporación, se utilizan en los cosméticos hidratantes son generalmente sustancias hidrosolubles con una cierta apariencia "oleosa" entre las que se encuentran la glicerina y urea (Schvartzman, S. y Cestilli, M., 2013).

La manteca de Karité aporta infinidad de propiedades y beneficios en cosmética como hidratación y nutrición en la piel que se traduce en una mayor elasticidad y protección (Méndez, M., et. al.,1991). Así mismo la vaselina es un emoliente y protector dermatológico que favorece a la hidratación de la piel y los labios

(Hernández, N, et. al., 2011), es por ello que se usarán dichas materias primas para mejorar la calidad e hidratación de la piel.

### 6.10.1.1 Emulsiones W/O ó O/W

Las emulsiones aumentan las propiedades terapéuticas, debido a que aumentan la absorción y mejoran la estabilidad de los componentes (Vila Jato, 2001). Se conocen tres tipos de emulsiones (Schvartzman, S. y Cestilli, M., 2013).

- Aceite en agua: son aquellas en que las partículas o pequeñas gotículas de aceite se hallan dentro de un sistema acuoso. Estas emulsiones se simbolizan frecuentemente como O/W.
- Agua en aceite: son aquellas en que las partículas de agua se encuentran dentro de un sistema oleoso. Estas emulsiones se simbolizan frecuentemente como W/O.
- Emulsiones múltiples: son sistemas trifásicos donde la fase acuosa interna está separada de la fase acuosa externa por la fase oleosa intermedia o viceversa se simbolizan como W/O/W y O/W/O.

La diferencia clave entre emulsiones y microemulsiones es que las primeras son fundamentalmente inestables desde el punto de vista termodinámico y eventualmente sufrirán separación de fases. Además, existen diferencias en sus métodos de preparación, debido a que las emulsiones requieren un gran aporte de energía mientras que las microemulsiones no (Carlucci, A. M., Cicconi Vidal, M. y Bregni, C., 2004). En la tabla 1 se muestran las características más relevantes de los tres tipos de sistemas en base a su tamaño.

Tabla 1. Diferencias entre emulsión y microemulsión (Tomado y modificado de Leung, R., Hou, M. y Shah, D., 1988).

Tipo de sistema	Tamaño de gota (Fase dispersa)	Características
Emulsión	300-1000 nm	Tiene un aspecto opaco, se forma mediante homogenización, no tiene estabilidad termodinámica y presenta alta tensión superficial.
Microemulsión	100-300 nm	Tiene un aspecto transparente, tiene buena estabilidad termodinámica, se forma espontáneamente y su tensión superficial es baja.
Nanoemulsión	10-100 nm.	Excelente estabilidad termodinámica, requiere de métodos de baja energía, que permiten obtener nano-emulsiones de tamaño de gota muy pequeño y baja polidispersidad.

Existen dos factores que comprometen la estabilidad de la emulsión, los irreversibles y los reversibles. Dentro de los reversibles se encuentran la floculación, en donde se forman agregados de glóbulos que no se fusionan entre sí, la cremación, en donde la fase dispersa se concentra en la parte superior y finalmente la sedimentación en donde las partículas se concentran en el fondo. Por otro lado, en el caso de los irreversibles se encuentra la coalescencia, en donde los glóbulos se fusionan entre sí y por último la inversión de fases donde la fase dispersa pasa al dispersante y viceversa (Vega, F., 2009).

Además, en las cremas que por su contenido en agua puedan contaminarse fácilmente por diversos microorganismos, es posible adicionar antimicrobianos para mejorar su conservación (Vila Jato, 2001).

### **6.11 Contaminación microbiana en las cremas**

La mayoría de las formulaciones cosméticas son productos que pueden sufrir contaminación microbiológica por diferentes orígenes: materias primas, medio ambiente, equipo de fabricación, equipo de envasado, mala manipulación por parte del personal de fabricación, e inadecuada utilización por parte del consumidor (Castelli, M., et al, 2015).

Cuando un producto cosmético sufre contaminación microbiológica, empieza su deterioro manifestando principalmente la producción de olores y cambios en su consistencia. Además, la presencia de los microorganismos, en el caso de las cremas pueden ocasionar ruptura de la emulsión en el caso de las cremas y alteración en las propiedades reológicas como es la pérdida de su textura. Para evitar la contaminación de los productos cosméticos y aumentar su duración se les añaden agentes conservadores (Vega, M., 2015).

#### **6.11.1 Conservantes cosméticos**

Un conservador se define como una sustancia que detiene o minimiza el deterioro causado por la presencia de diferentes tipos de microorganismos que se incorporan en los cosméticos en baja concentración. Su función es la de proteger al producto frente a la contaminación microbiana durante la fabricación, almacenaje y uso cotidiano del consumidor (Vega Picón, 2015).

Se debe tener en cuenta que algunos de los agentes antimicrobianos de origen químico regularmente utilizados en la industria cosmética son sustancias tóxicas. Los más comúnmente empleados actualmente son: parabenos, fenol, alcohol bencílico, clorobutanol y dos derivados mercuriales: nitrato fenilmercúrico y tiomersal. Los parabenos son una familia de alquil ésteres del ácido p-hidroxi benzoico y los ésteres más empleados son metil, etil, propil, butil y bencilparabeno.

Se suelen utilizar en combinaciones entre ellos y junto con otros antimicrobianos, de esta forma se consigue un efecto sinérgico (Rodríguez, E., 2011).

El cuadro clínico más frecuentemente asociado a los parabenos es la dermatitis de contacto alérgica por el uso de sustancias tóxicas que contienen estos conservadores. También se han descrito casos de dermatitis de contacto sistémicas a partir de exposiciones parenterales, así como urticarias (Díaz B., Heras F. y Conde-Salazar L., 2006).

Por la problemática anterior se ha mostrado un gran interés en el desarrollo de cosméticos utilizando conservadores naturales como sustitutos de los tradicionalmente usados, principalmente para reducir el riesgo de reacciones alérgicas que se han relacionado a dichos conservadores sintéticos (Esquivel, P., 2017).

Los extractos de plantas se han utilizado desde tiempos ancestrales como fuente de sustancias antimicrobianas para el tratamiento de enfermedades infecciosas, por esta razón actualmente se ha prestado mucha atención a las plantas medicinales como una alternativa a los agentes químicos en el control del desarrollo microbiano en diversos productos (Esquivel, P., 2017).

Actualmente la medicina tradicional es un recurso fundamental para la salud humana. Las plantas son fuente potencial de moléculas activas, las cuales poseen una gran variedad estructural. El uso de plantas con fines medicinales es muy antiguo y durante mucho tiempo ellas fueron una de las principales opciones para el tratamiento de enfermedades. No son pocos los productos del metabolismo secundario de plantas que han mostrado ser buenos agentes antimicrobianos; algunos ejemplos de productos naturales utilizados como conservantes son saponinas, aceites esenciales, ácido benzoico, ácido salicílico, fenoles, timol y bactericinas (Rodríguez, E., 2011).

### **6.11.2 Mecanismo de acción de los conservadores cosméticos**

El mecanismo de acción es la forma en la que actúa un conservador hacia los diferentes microorganismos para evitar la contaminación de los productos cosméticos, casi todos actúan desnaturando las proteínas o afectando a la permeabilidad de la membrana de los microorganismos y, por tanto, bloqueando el transporte y la generación de energía (Lerazos, S., 2002).

Se pueden clasificar de acuerdo con su mecanismo de acción: agentes que dañan la membrana, agentes desnaturantes y agentes modificadores de grupos funcionales (Lerazos, S., 2002).

### 6.11.2.1 Agentes que dañan la membrana celular

Los disolventes orgánicos como los alcoholes y tensioactivos catiónicos (p. ej., los amonios cuaternarios), dañan la integridad estructural de la membrana, es decir, alteran la disposición ordenada de lípidos y proteínas, lo que origina interferencias con procesos de transporte y metabolismo energético de la célula (Lerazos, S., 2002).

Los ácidos débiles como p-hidroxibenzoico (parabenos), benzoico o dehidroacético actúan alterando el potencial eléctrico de membrana y permeabilidad, bloqueando la generación de energía y pérdida de transporte (Lerazos, S., 2002).

### 6.11.2.2 Agentes desnaturalizantes de proteínas

Alcoholes y donadores de formaldehído, entre otros, facilitan la agregación y precipitación de las proteínas del citoplasma y membranas de los microorganismos. (Lerazos, S., 2002).

### 6.11.2.3 Agentes modificadores de grupos funcionales

Esta clase de agentes se caracteriza porque actúan alterando los grupos funcionales de las proteínas de las membranas, centros activos de enzimas y ácidos nucleicos (donadores de formaldehído, isotiazolinonas) (Lerazos, S., 2002).

### 6.11.3 Fenoxietanol

Conservador de amplio espectro (bacterias, levaduras y hongos) utilizado principalmente en la preservación de productos cosméticos y de cuidado personal, como shampoos, acondicionadores, cremas y productos para bebés. Es un éter del glicol (véase en figura 3), en estado líquido, transparente, viscoso de baja solubilidad en agua, que se emplea en muchas formulaciones como conservante por su poder bactericida, se utiliza como sustituto para parabenos. Según el Acuerdo por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de belleza, está permitido hasta el 1% y a esta concentración tiene un efecto del 99.9%. Tiene actividad funcional y la eficacia en un intervalo de pH (4.0-8.0). Su mecanismo de acción consiste en provoca daños en la pared celular y apoptosis de los microorganismos (Weber, R. A., et al., 2007).

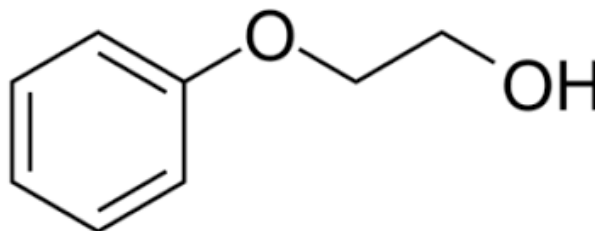


Figura 3. Estructura del fenoxietanol (Weber, R. A., et al., 2007)

#### 6.11.4 Test de Eficacia

Una vez que se ha realizado el diseño de la fórmula cosmética y seleccionado el sistema conservante más adecuado, es necesario comprobar experimentalmente, que el producto cosmético es capaz de prevenir los efectos adversos que pueden originarse durante su uso o almacenamiento, como consecuencia de una contaminación. Con este fin, se ha diseñado el denominado Test de Eficacia o *Challenge Test*, cuyo protocolo experimental se encuentra descrito en la Farmacopea Española, los microorganismos patrón utilizados en el test de Desafío son: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger* (Lerazos, S., 2002).

#### 6.12 Principales Patógenos en Emulsiones

##### 6.12.1 *Escherichia coli*

La bacteria *E. coli* fue descrita por primera vez en el siglo XIX por el Dr. Theodor Escherich como "*Bacterium coli comune*". Es un bacilo Gram negativo no esporulada, con un tamaño promedio de 1.1-1.5  $\mu\text{m}$  de ancho y 2.0-6.0  $\mu\text{m}$  de largo, anaerobio facultativo y puede ser móvil por la presencia de flagelos peritricos o no móviles. Es un microorganismo relevante ya que junto con más de 500 especies bacterianas convive en simbiosis con el hospedero y constituye la microbiota intestinal especialmente en el ciego y el colon, reside en la capa de moco que cubre las células epiteliales del tracto intestinal (Juarez, E., 2018).



Figura 4 Bacteria *Echerichia coli* (Tomada de Pérez, K., 2017)



### 6.12.2 *Staphylococcus aureus*

El nombre del género *Staphylococcus* procede del griego staphylé, “racimo de uvas”. Por tanto, la designación de *Staphylococcus* se refiere a que las células se desarrollan en un patrón que se asemeja a un racimo de uvas. La mayor parte de los estafilococos tienen un diámetro entre 0.5 y 1µm y son anaerobios facultativos inmóviles capaces de crecer en un medio con una elevada concentración de sal y a una temperatura desde 18 hasta 40°C. Estas bacterias están presentes en la piel y las mucosas del ser humano. En la actualidad, el género comprende 35 especies y 17 subespecies, muchas de las cuales se encuentran en el ser humano, algunas especies se desarrollan en nichos muy específicos en los que se encuentran habitualmente. Las bacterias del género *Staphylococcus* conforman un importante grupo de patógenos en el ser humano y originan un amplio espectro de enfermedades sistémicas que pueden poner en peligro la vida, infecciones de piel, las partes blandas, los huesos y el aparato genitourinario e infecciones oportunistas (García, D., 2015).

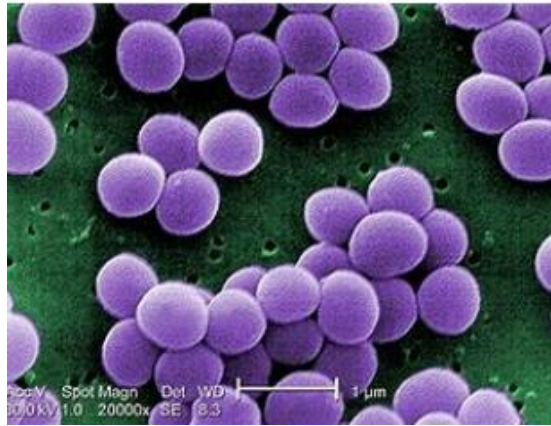


Figura 5. *Staphylococcus aureus* (Tomada de Pérez, K., 2017)

## 6.13 *MORINGA OLEIFERA*

### 6.13.1 Antecedentes y Taxonomía

La *Moringa oleífera* es un árbol originario del norte de la india (Gupta, R., et al, 2012). En algunas regiones del mundo la planta es conocida como: marango, moringa, resedá, árbol de rábano, árbol de la baqueta, ángela, árbol de los espárragos, árbol de las perlas, árbol del bien, árbol de la vida, árbol de los milagros, entre otros (Martín, C., et al., 2013).

Pertenece al género *Moringa* y familia botánica de las Moringaceae un grupo pequeño de plantas dentro del inmenso orden Brassicales que incluye la familia de la col y del rábano, junto con la familia del mastuerzo y de las alcaparras. Esta familia de plantas incluye en el género solo trece especies, las cuales abarcan una gama

muy diversa de hábitos o formas de crecimiento, desde hierbitas y arbustos hasta árboles grandes (Olson y Fahey, 2011).

### 6.13.2 Descripción botánica

La Moringa es la más ampliamente estudiada y utilizada, El árbol alcanza alturas desde los 5 hasta los 15 m. El tronco alcanza diámetros desde los 25 hasta los 30 cm, su corteza es blanquizca y sus raíces ligeras y gruesas; hojas alternas, pequeñas, doble y triple pinnadas. Las flores se producen en panículos y son aromáticas. El fruto es alargado y triangular, contiene de 13 a 18 semillas. Las flores y los frutos aparecen dos veces al año, las semillas plenamente maduras y secas son redondas o de forma triangular (véase figura 6) (Tino, E., 2015).

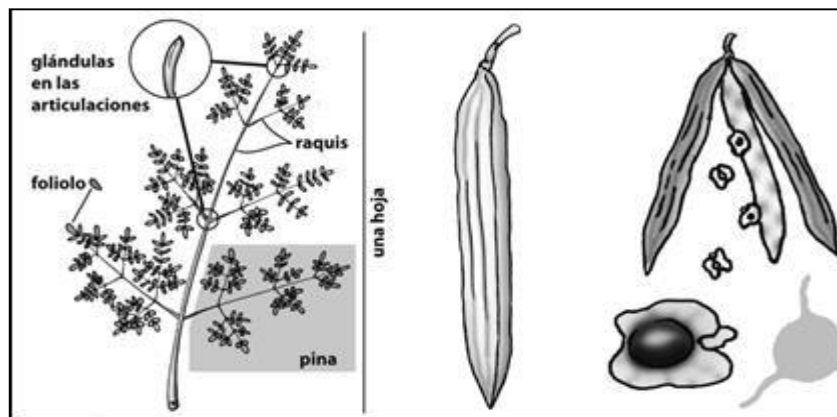


Figura 6. Representación de la hojas, fruto y semillas de Moringa oleífera (Tomada de Olson y Fahey, 2011).

Muchas de sus propiedades se deben a las semillas, por su alto contenido en aceite y cuya composición tiene más del 70 % en ácido oleico; esta característica en especial hace del aceite un potencial sustituto del aceite de oliva, además todas las partes del árbol tienen un valor nutritivo tanto las hojas, frutos, flores y vainas inmaduras de este árbol (Tino, E., 2015).

### 6.13.3 Origen y Distribución

Al referirse a su origen se debe nombrar a la India, lugar en el que se cultiva hace miles de años. Actualmente la Moringa es distribuida por África, Medio Oriente, sureste de Asia, el Pacífico, las Islas del Caribe, Centro y Norteamérica (Urquillas, N., 2017).

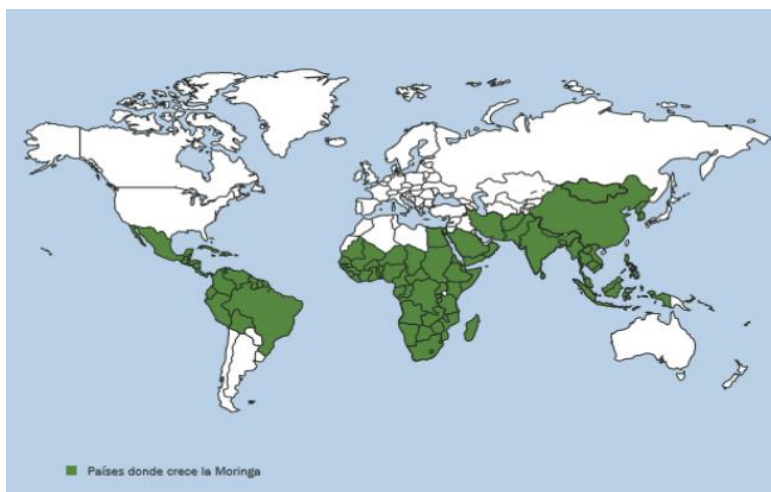


Figura 7. Países donde crece la Moringa (Tomada de Urquillas, N., 2017).

En México la Moringa ha llegado en forma de semillas desde África y la India para su cultivo en campos especializados; se encuentra abundantemente en los pueblos de toda la costa del Pacífico, desde el sur de Sonora hasta Chiapas, incluyendo el sur de la península de Baja California (Olson y Fahey, 2011).

Se cultiva mejor en climas tropicales soleados, se la encuentra en abundancia cerca de ríos y arroyos, aunque también soporta rangos de lluvia de 25 a más de 300 cm por año (Urquillas, N., 2017).

#### **6.13.4 Composición fotoquímica y Aspectos nutricionales**

La Moringa posee cualidades nutricionales sobresalientes y está considerada como uno de los mejores vegetales perennes (Folkard, G., 1996).

Las semillas contienen aceite, glicósidos, pterigospermina, y 4- Bencilisocianato y trazas de alcaloides. La corteza de la raíz contiene  $\beta$ - sitosterol, trazas de alcaloides, afomina, espiraquina y gomas. Las hojas y flores contienen aminoácidos, quercetina, vitaminas y minerales. La goma del tallo contiene dextrina, basorina, enzimas (emulsina y mirosina) y un alcaloide (moringenina).

Las hojas pueden ser fuente de proteína para la alimentación animal, conteniendo entre 15,6% y 29% de proteína cruda con base a la hoja seca (Robles F. 2017). Las hojas secas contienen: humedad (8,4%), cenizas (12,5%), nitrógeno total (3,3%), proteínas (20,6%), fibra cruda (3,8%), extracto etéreo (9%) y extracto no nitrogenado (45,6%). La planta entera, en masa seca tiene un 10% de azúcar y un 8% de almidón.

Además, las hojas contienen sustancias fitoquímicas como taninos, esteroides, triptenoides, flavonoides, saponinas, antraquinonas, alcaloides, azúcares reductores, fenoles, antioxidantes (flavonoides y carotenoides), también se

encuentran presentes en la planta (Olson y Fahey, 2011). Siendo los fenoles, taninos, alcaloides y flavonoides los grupos químicos más importantes con actividad antimicrobiana obtenidos de plantas Domingo, D. y López-Brea, M., 2003).

En el caso específico del aceite de moringa, tiene una variedad y complejidad de esteroides (kaempferol) campesterol, estigmasterol, betasitosterol, 5-avenasterol y clerosterol entre otros destacados, que marcan la diferencia con respecto a la mayor parte de los aceites convencionales (Paniagua, A. y Chora, J., 2016).

Es rica en varias sustancias muy peculiares, a continuación, se muestran los fitoconstituyentes de las distintas partes de la planta (Martín, C., et al., 2013) (Flores, M., 2016).

**Hojas:** Dos glucósidos de nitrilo, niazirina y niazirinina, tres de aceite de mostaza, 4- [(4'-O-acetil-  $\alpha$ -isotiocianato, niaciminina A y B,  $\alpha$ -L-ramnosidos de bencilo compuesto con nitrilo, carbamat y tiocarbamato, flavonoides, antocianinas, cinamatos, quercetina-3-O-glucósidos, 3-Malonil quercetina y cantidades más bajas de glucósido y canferol-3-O-(6'-malonil glucósido). También contienen ácido-3-cafeoilquino y ácido-5-cafeoilquino.

**Corteza:** 4- ( $\alpha$ -Lramnopiranosiloxi) -benzilglucosinolato

**Semilla:** 4-hidroximelleina, vanillina,  $\beta$ -sitosterona, ácido octacosánico y  $\beta$ -sitosterol

**Raíces:** 4-( $\alpha$ -Lramnopiranosiloxi)-benzilglucosinolato y benzilglucosinolato

**Flores:** Azúcares como D-manosa y D-glucosa, G-galactosa y ácido D- glucurónico

### 6.13.5 Usos medicinales

La Moringa es muy importante por su valor medicinal. Diversas partes de la planta como sus hojas, semillas, corteza, flores, raíz y tallo se les relaciona con propiedades como: estimulante cardiaco y circulatorio, antitumoral, antipirético, antiépiléptico, antiinflamatorio, contra la úlcera, antimicrobiano, antioxidante, antiespasmódico, antihipertensivo; para el tratamiento de diarrea, infecciones cutáneas, anemia, asma, bronquitis, catarro, cólera, conjuntivitis, tos, dolor de cabeza, dolor de garganta, esguinces, tuberculosis, osteoporosis, diabetes, además promueve los niveles normales de glucosa en sangre, apoya el sistema inmune, aumenta la producción de leche materna en madres lactantes (Martín, C., et al., 2013) (Olson y Fahey, 2011), actúa contra la ansiedad, ataques de parálisis, congestión del pecho, disfunción eréctil, dolor en las articulaciones, escorbuto, espinillas, fiebre, gonorrea, hinchazón glandular, histeria, impurezas en la sangre, llagas, malaria, otitis, parasitismo intestinal, picaduras venenosas, problemas de la vejiga y la próstata, soriasis, tumores abdominales, úlceras, etc. (Fuglie, L., 2001).

El uso medicinal de cada parte de la Moringa se muestra a continuación: (Bonaf R., Rivera R. y Bolívar M., 2012).

**Raíz:** Antilitiásico, rubefaciente, vesicante, carminativo, para la fertilidad, antiinflamatorio, para estimular a pacientes en estado paralítico; también actúa como tónico cardiocirculatorio, como laxante, como método abortivo y se emplea para aliviar algunas afecciones: reumatismo, inflamaciones, dolores articulares, sacrolumbalgia y estreñimiento.

**Hojas:** Pueden utilizarse como purgante, como cataplasma en las heridas, para minimizar los dolores de cabeza (frotarlas en la sien), las hemorroides, la fiebre, el dolor de garganta, la bronquitis, las infecciones óticas y oculares, el escorbuto y el catarro; el jugo de las hojas controla los niveles de glucosa y reduce la inflamación glandular.

**Corteza:** Como rubefaciente, vesicante, para curar enfermedades oculares y para el tratamiento de pacientes delirantes. Asimismo, previene la formación de glándulas tuberculosas en el cuello, destruye los tumores y sana las úlceras. El jugo de la corteza del tallo alivia los dolores de oídos, se pone en la cavidad dentaria como analgésico y tiene actividad antituberculosa.

**Flores:** Poseen alto valor medicinal como estimulante, afrodisíaco, abortivo, colagogo y antiinflamatorio. Se emplean para aliviar enfermedades musculares, histeria, tumores, agrandamiento del bazo, para bajar los valores del colesterol, los fosfolípidos, los triglicéridos y el índice aterogénico; también disminuye el perfil lipídico del hígado, del corazón y de la aorta en conejos hipercolesterolémicos y aumenta la excreción de colesterol fecal.

**Semillas:** El extracto de las semillas ejerce su efecto protector, disminuye los peróxidos lipídicos del hígado.

Estos son sólo algunos de los usos de este árbol, que además crece con suma rapidez, tolera el calor y es resistente a las sequías (Olson y Fahey, 2011).

#### **6.13.6 Moringa y la piel**

El aceite de la semilla de la moringa contiene propiedades antisépticas y antiinflamatorias que ayudan a curar rápidamente pequeñas dolencias cutáneas como: heridas superficiales, hematomas, quemaduras, picaduras, erupciones y rasguños ayuda también en el bronceado y el mantenimiento del mismo por su rico contenido en cobre y calcio que son importantes nutrientes en la piel. El aceite de moringa se usa extensamente como aceite portador en preparaciones cosméticas, en reducir la aparición de arrugas y líneas finas, embellece la piel, promueve la estructura celular del cuerpo y produce una sensación de bienestar general (Paniagua, A. y Chora, J., 2016).

La moringa contiene aminoácidos esenciales (Isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina y triptofano), estos son bloques que constituyen proteínas necesarias para crecer, reparar y mantener las células. Gracias a estos aminoácidos que contiene la moringa, dan a la piel propiedades hidratantes y nutritivas, que hace que sea un ingrediente activo en productos de cuidados cutáneos, según la literatura investigada, el extracto de Moringa tuvo buen efecto hidratante al 12% (Sanchez, V., et al., 2019).

### **6.13.7 Evaluación antimicrobiana**

La Moringa es usada para el control de diversas infecciones provocadas por microorganismos es bien conocido, y en años recientes se han generado resultados científicos que confirman su actividad antimicrobiana, tal como en Brasil demostraron por medio de un antibiograma la actividad antibacteriana de la Moringa contra *Mycobacterium phlei* a una concentración del extracto de 40  $\mu\text{M}$  / L y el de *Bacillus subtilis* a una concentración del extracto de 56  $\mu\text{M}$  / L, (Viera, G., et al, 2010).

Otros estudios han demostrado in vitro dicha actividad de diferentes partes de la planta sobre los microorganismos patógenos. La inhibición del crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* por extractos acuosos de las hojas fue demostrada por científicos guatemaltecos (Cáceres, 1991). Por otra parte, científicos demostraron la actividad antifúngica de aceites esenciales de las hojas y de extractos alcohólicos de las semillas y las hojas contra dermatofitos como *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes* (Chuang, P., 2007).

Además, se logró identificar 44 componentes de los aceites esenciales de las hojas que pueden ser utilizados en el desarrollo futuro de fármacos para el tratamiento de enfermedades cutáneas típicas en áreas tropicales (Martín C., et al., 2013).

Estudios bacteriológicos demostraron la actividad antimicrobiana de los extractos de semillas de moringa, los cuales floculan bacterias Gram positivas y Gram negativas del mismo modo que lo hacen con los coloides del agua. Su acción bacteriostática consiste en la disrupción de la membrana celular por inhibición de enzimas esenciales (Martín, C., et al., 2013).

La Moringa muestra la presencia de 3 compuestos responsables de dicha actividad: 4-(L-Ramnopiranosiloxi) isotiocianato de bencilo, N-4-(L-Ramnopiranosiloxi) bencil carbamato de metilo y 4-(D-Glucopiranosil-1, 4-L-Ramnopiranosiloxi)-tiocarbozamida bencilo, todos mostrando actividad bactericida muy alta contra los patógenos, en especial el último ya que presenta una potente inhibición de 99.2% hacia *Shigella dysenteriae* y un 100% contra *Bacillus cereus*, *E. coli* y *Salmonella typhi* (Oluduro, O., et al. 2010). La potencia de los isotiocianatos como antibióticos también quedó demostrada en un estudio con *Helicobacter pylori*, que es el causante de úlceras gástricas y duodenales (Sánchez, S., et al., 2013).

En una investigación muy reciente realizada en Kenya se demostró la actividad antimicrobiana de extractos de semillas de la Moringa sobre las bacterias: *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*, causantes de la fiebre tifoidea, el cólera y la gastroenteritis, respectivamente, donde usaron concentraciones de 50, 35, 20 y 15 mg/ml (Walter, A., et al, 2011).

#### **6.13.8 Otras aplicaciones**

La Moringa oleífera es una planta de usos múltiples, útil como fuente de alimento, medicina natural, forraje animal, productos forestales, fertilizantes, etc. también se encuentra la producción de sustancias gomosas ya que estas se emplean en importantes tipos de industrias, como la de alimentos, la farmacéutica, la cosmética y otras; en la elaboración de los más disímiles productos como: confites, derivados lácteos, alimentos enlatados, bebidas gaseosas, productos dietéticos, emulsiones, tabletas, grageas, jarabes y suspensiones, emulsiones y cremas, cintas pegantes, papel, tintas, pinturas, y telas. Además, las semillas exhiben la propiedad de coagulantes-floculantes naturales, que tienen uso potencial en agua y tratamiento de aguas residuales para eliminar la turbidez y los lodos de las mismas (Tino, E., 2015).

### **6.14 Extractos**

#### **6.14.1 Definición**

La Farmacopea de Estados Unidos (USP) define a los extractos como preparaciones concentradas de origen vegetal o animal obtenidas mediante la remoción de los componentes activos de las drogas respectivas con menstros apropiados. La evaporación de todo o casi todo el disolvente y el ajuste de las masas o polvos residuales para que cumplan las normas prescriptas Gennaro, Alfonso R. (2003).

#### **6.14.2 Clasificación de los extractos vegetales**

Los extractos vegetales se clasifican, según su consistencia en fluidos, blandos y secos. Como el propio nombre lo indica, los fluidos son líquidos y corresponden en general a la droga seca en un disolvente en una proporción de 1:1 (1ml de extracto corresponde a 1 g de la planta seca). Los extractos blandos son semi-sólidos, con contenido de agua alrededor de un 60%, mientras los extractos secos son sólidos, polvos o granulados (Pérez K., 2017).

#### **6.14.3 Estabilidad de los extractos**

Los extractos acuosos deben ser usados en el momento, o dentro de un periodo reducido de tiempo, ya que no son estables. La degradación bioquímica y la contaminación microbiana hacen que rápidamente estos preparados ya no sean

aptos para el consumo humano o que pierdan sus propiedades curativas. Los valores de estabilidad de los diferentes fitoextractos presentan mayor modificación en soluciones acuosas frente a aquellas en soluciones que contienen tensioactivos y glicólicas respectivamente. El agua es un buen disolvente de muchos principios activos de las drogas, pero por esta misma razón, resulta generalmente poco selectivo. Además, muchos principios activos se hidrolizan en agua (Pulla, H., 2014).

#### **6.14.3.1 Estabilidad del extracto acuoso**

Los extractos acuosos tienen una estabilidad poco duradera una vez preparados y deben de ser obtenidos para su utilización en un periodo de tiempo relativamente corto. Muchos extractos fluidos se alteran fácilmente en contacto con la luz, agua y aire. Sin embargo, son muy utilizados para obtener formas líquidas (jarabes, pociones, gotas, entre otras) ya que se manipulan y dosifican con facilidad (Pulla, H., 2014).

### **7. METODOLOGÍA**

El diseño de investigación es experimental con estudio descriptivo, en el cual se observará el efecto antimicrobiano del extracto comercial, el extracto natural, así como la actividad antimicrobiana del fenoxietanol (usado como conservador en cosméticos) y la combinación de éstos, también se describirá el diseño factorial, así como las pruebas de estabilidad.

#### **7.1 Obtención del extracto acuoso**

Se trabajará con dos extractos el primero se obtuvo de Rosa Elena Dueñas S.A. DE C.V. en presentación de extracto acuoso (véase en anexos figura 15), el segundo fue proporcionado por estudiantes de la UAM Xochimilco del laboratorio N-111 donde se obtuvo por destilación hidroalcohólica.

#### **7.2 Almacenamiento y acondicionamiento**

El extracto comercial se almacenó en un frasco ámbar herméticamente sellado a una temperatura de 4°C hasta su posterior uso. Posteriormente fue filtrado para eliminar cualquier impureza (Pérez, K., 2017), de igual manera el extracto natural obtenido en el laboratorio N-111 se almacenó en las mismas condiciones.

#### **7.3 Obtención y preparación del inóculo (Reactivación de las cepas)**

Las cepas utilizadas fueron *Staphylococcus aureus* y *E. coli* de las cuales se realizó una reactivación de las cepas después de estar en refrigeración en tubos de ensayo que contenían el medio agar cuenta estándar, las bacterias se sembraron con un asa bacteriológica en caldo nutritivo, después se incubaron a 37°C durante 24 horas para obtener así un cultivo joven (Pantoja, Y., et al., 2007).



## 7.4 Determinación del efecto antimicrobiano mediante la prueba de antibiograma

El antibiograma es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a una sustancia a analizar en este caso el extracto de Moringa; con esta prueba se determinó la susceptibilidad de cada una de las bacterias estudiadas *S. aureus* y *E. coli* ante cada uno de los extractos. Se realizaron 3 antibiogramas con la misma metodología, pero diferentes discos.

Se preparó el medio de cultivo agar cuenta estándar en condiciones estériles, posteriormente fue vaciado en cajas Petri hasta lograr la solidificación, para continuar con una siembra masiva (véase en figura 8) en la superficie de cada una de las cajas con su cepa correspondientemente. Los discos utilizados fueron de 5 mm de diámetro de papel filtro Whatman número 1 estériles. En seguida y con ayuda de pinzas de disección los discos fueron remojados en los diferentes extractos y diluciones previamente preparadas, asegurándose de que absorbieran la suficiente cantidad para ser colocadas sobre la superficie de cada una de las cajas como se muestra en las siguientes figuras. Cabe mencionar que las pruebas se realizaron por triplicado.

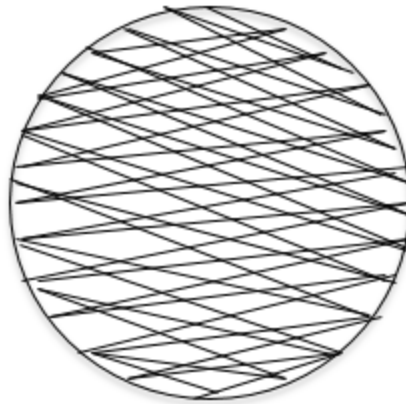
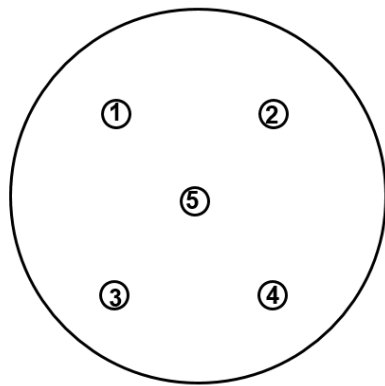


Figura 8. Siembra masiva

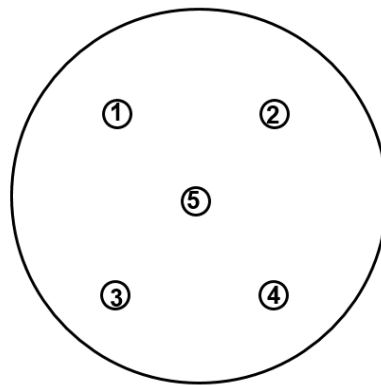
### 7.4.1 Antibiograma 1

Este antibiograma se realizó utilizando el extracto comercial Rosa Elena y 3 concentraciones diferentes de este (1:10, 2:10, 3:10) usando solución salina isotónica y fenoxietanol como referencia.



- 1.- Extracto comercial Rosa Elena
- 2.- Dilución 1:10
- 3.- Dilución 2:10
- 4.- Dilución 3:10

Figura 9. Rotulación de la actividad antimicrobiana de diluciones en *S. aureus*

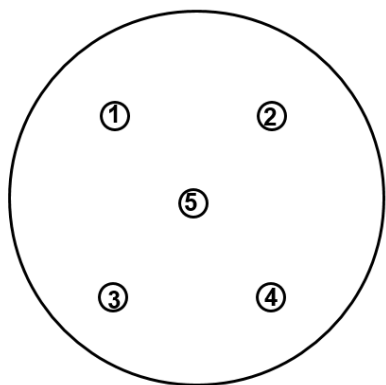


- 1.- Extracto comercial Rosa Elena
- 2.- Dilución 1:10
- 3.- Dilución 2:10
- 4.- Dilución 3:10

Figura 10. Rotulación de la actividad antimicrobiana de diluciones en *E. coli*

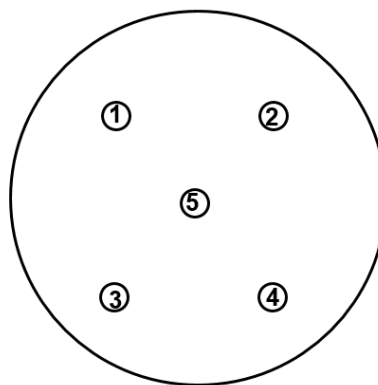
### 7.4.2 Antibiograma 2

Para preparar el extracto concentrado del producto comercial, se sometió a baño maría hasta que se redujo a la mitad del volumen inicial (véase en anexos fig. 17). Posteriormente se realizó el antibiograma como se explicó previamente en el punto 7.4



- 1.-Extracto comercial Rosa Elena
- 2.-Extracto comercial Rosa Elena
- 3.-Extracto comercial Tratado
- 4.-Extracto comercial Tratado
- 5.-Fenoxietanol

Figura 11. Rotulación de la actividad antimicrobiana del extracto concentrado en *S. aureus*

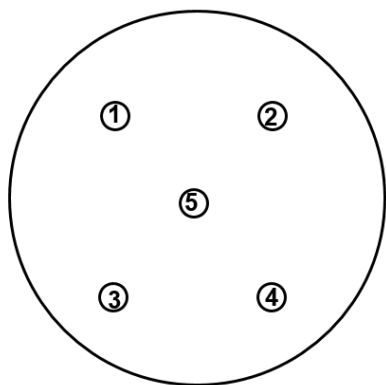


- 1.-Extracto comercial Rosa Elena
- 2.-Extracto comercial Rosa Elena
- 3.-Extracto comercial Tratado
- 4.-Extracto comercial Tratado
- 5.- Fenoxietanol

Figura 12. Rotulación de la actividad antimicrobiana del extracto concentrado en *E coli*.

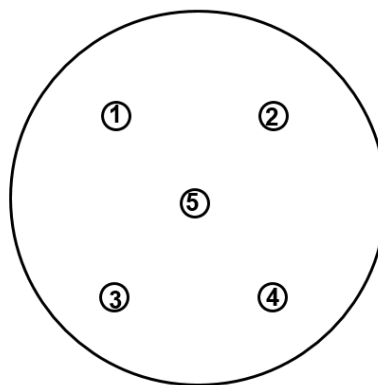
### 7.4.3 Antibiograma 3

En este antibiograma se valoró el extracto natural elaborado en el laboratorio N-111, comparado con el comercial. También se estudió para ver la potencialidad de los extractos combinados con el fenoxietanol, en proporción 1:1



- |   |
|---|
| 1.-Extracto comercial Rosa Elena<br>2.-Extracto Lab N-111<br>3.-Combinación del Extracto comercial Rosa Elena con Fenoxietanol<br>4.-Combinación Extracto Lab N-111 con Fenoxietanol<br>5.-Fenoxietanol |
|---|

Figura 13. Rotulación de la comparación de la actividad antimicrobiana en *S. aureus*



- |   |
|---|
| 1.-Extracto comercial Rosa Elena<br>2.-Extracto Lab N-111<br>3.-Combinación del Extracto comercial Rosa Elena con Fenoxietanol<br>4.-Combinación Extracto Lab N-111 con Fenoxietanol<br>5.-Fenoxietanol |
|---|

Figura 14. Rotulación de la comparación de la actividad antimicrobiana en *E. coli*

Las cajas se incubaron a una temperatura de 35°C durante 24 horas. Después de este tiempo, se procedió a retirar las cajas Petri de la estufa con la finalidad de observar la ausencia o presencia de halo de inhibición. Posteriormente con ayuda de un vernier se realizó una medición de cada uno de los halos presentes en cada caja.

### 7.5 Diseño factorial de múltiples niveles

Se realizó un diseño factorial de tres niveles usando Minitab como herramienta estadística (Wayne, D., 1999) a continuación, se presenta el resumen del diseño.

Factores:	2	Réplicas:	1
Corridas base:	9	Total de corridas:	9
Bloques base:	1	Total de bloques:	1

Número de niveles: 3, 3

Tabla 2. Diseño (aleatorizada)

Corrida	Bloque	A	B
1	1	2	1
2	1	3	2
3	1	1	1
4	1	3	3
5	1	3	1
6	1	2	2
7	1	1	2
8	1	2	3
9	1	1	3

Abreviaturas: Tensoactivos Span 60 y Tween 60 (A), Alcohol cetílico (B)

Las formulaciones se establecieron con un diseño aleatorizado de 3 niveles (1,2,3) y 2 factores (tensoactivo y alcohol cetílico) que se aleatorizaron como se muestra en la tabla 2, dando lugar a 9 corridas (formulaciones).

Tabla 3. Diseño factorial de una formulación hidratante O/W

Orden Corrida	Bloques	A (g)	B (g)
1	1	5.0	2.5
2	1	7.5	3.0
3	1	2.5	2.5
4	1	7.5	5.0
5	1	7.5	2.5
6	1	5.0	3.0
7	1	2.5	3.0
8	1	5.0	5.0
9	1	2.5	5.0

Abreviaturas: Tensoactivos Span 60 y Tween 60 (A), Alcohol cetílico (B)

La tabla número 3 representa las cantidades (g) que se deberán usar de tensoactivo y alcohol cetílico respectivamente a cada corrida (1-9) como se aleatorizó previamente, con la finalidad de obtener la formulación base más estable. Cabe mencionar que el resto de las materias primas a usar quedan fijas.

### **7.5.1 Metodología de fabricación de una formulación base hidratante O/W**

- 1- En un vaso de precipitado de 150ml se pesó agua destilada y urea correspondientes a la Fase "A" (fase acuosa)
- 2- Se colocó la Fase "A" en agitación con caframo en baño María a una velocidad de agitación de 200 rpm, a temperatura ambiente una vez dispersa la urea se añadió la glicerina y posteriormente tween 60, se inició el calentamiento hasta llegar a  $46\pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- 3- Simultáneamente en un vaso de precipitado de 100ml se elaboró la Fase "B" (fase oleosa), se añadió la Manteca de Karité, Alcohol cetílico, Vaselina líquida y Span 60 en sus cantidades correspondientes.
- 4- Se situó la Fase "B" en la parrilla de calentamiento con agitación constante 5 minutos antes de que concluyera el paso número 2 hasta su completa disolución.
- 5- Se colocó la Fase "B" en baño María en donde se encontraba la Fase "A" (ambas en recipientes separados) hasta llegar a una temperatura de  $46\pm 2^{\circ}\text{C}$ , evitando un choque térmico.
- 6- Una vez disuelta la fase oleosa y con igualdad de temperaturas, se añadió la fase "B" lentamente a la fase "A", la cual se encontraba en agitación constante a 600rpm durante 15 minutos manteniendo la temperatura antes mencionada.
- 7- Finalmente se enfrió con paleteo constante en un baño de agua con hielo hasta llegar a temperatura ambiente, durante 10 minutos aproximadamente.
- 8- El producto terminado se sometió a estabilidad para evaluar las propiedades físicas.

### **7.5.2 Metodología de fabricación de una formulación hidratante O/W**

- 1- En un vaso de precipitado de 150ml se pesó agua destilada y urea correspondientes a la Fase "A" (fase acuosa)
- 2- Se colocó la Fase "A" en agitación con caframo en baño María a una velocidad de agitación de 200 rpm, a temperatura ambiente una vez dispersa la urea se añadió la glicerina y posteriormente tween 60, se inició el calentamiento hasta llegar a  $46\pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- 3- Simultáneamente en un vaso de precipitado de 100ml se elaboró la Fase "B" (fase oleosa), se añadió la Manteca de Karité, Alcohol cetílico, Fenoxietanol, Vaselina líquida y Span 60 en sus cantidades correspondientes.
- 4- Se situó la Fase "B" en la parrilla de calentamiento con agitación constante 5 minutos antes de que concluyera el paso número 2 hasta su completa disolución.

- 5- Se colocó la Fase "B" en baño María en donde se encontraba la Fase "A" (ambas en recipientes separados) hasta llegar a una temperatura de  $46\pm 2^{\circ}\text{C}$ , evitando un choque térmico.
- 6- Una vez disuelta la fase oleosa y con igualdad de temperaturas, se añadió la fase "B" lentamente a la fase "A", la cual se encontraba en agitación constante a 600rpm durante 15 minutos manteniendo la temperatura antes mencionada. Terminado el paso 6 se bajó la temperatura a  $30^{\circ}\text{C}$  para añadir el aceite de moringa y se agitó durante 3 minutos a una velocidad de 400rpm.
- 7- Finalmente se enfrió con paleteo constante en un baño de agua con hielo hasta llegar a temperatura ambiente, durante 10 minutos aproximadamente.
- 8- El producto terminado se sometió a estabilidad para evaluar las propiedades físicas.

## **7.6 Pruebas de estabilidad**

Se sometió a 2 condiciones TAO (Temperatura ambiente oscuridad) y  $40^{\circ}\text{C}$  por un periodo de 1 mes para evaluar las propiedades organolépticas como son: apariencia, color, olor y textura, por otro lado, evaluar los cambios físicos: viscosidad, pH, densidad y determinación del tipo de emulsión (Miguel, C., 2019). Ver resultados en la tabla número 14 y 15 respectivamente.

### **7.6.1 Características Organolépticas**

Las propiedades organolépticas determinan los parámetros de aceptación del producto por el consumidor. De un modo general, se evaluó: apariencia; color; olor y sensación al tacto (ANVISA, 2005).

La muestra del producto puede ser clasificada según los siguientes criterios:

- a) Aceptación
  - Normal, sin alteración
  - Ligeramente modificada
- b) Rechazo
  - Modificada
  - Intensamente modificada.

### **7.6.2 Evaluación física**

Es importante estudiar alteraciones en la estructura de la formulación que no son comúnmente perceptibles a simple vista. Estos análisis pueden indicar problemas de estabilidad entre los componentes o resultado del proceso de fabricación. Los análisis físicos analizados fueron: valor de pH, viscosidad y densidad (ANVISA, 2005).

El pH se midió con ayuda del Potenciómetro marca OAKTON modelo pH2700, la viscosidad se midió con el Viscosímetro marca BROOKFIELD modelo RVT, ajuga número 4 a una velocidad de 5rpm de acuerdo con los lineamientos estipulados en la Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), en el MGA 0951 y la densidad se midió con un picnómetro de metal previamente calibrado como se indica en el MGA 0251 de la FEUM.

### **7.6.3 Determinación del signo de emulsión O/W ó W/O**

Se comprobó el signo de la emulsión con la prueba de dilución (una emulsión es soluble en su fase externa), ya que puede haber inversiones de fase que alteren las características y la estabilidad de la emulsión (ANVISA, 2005), para ello se añadió una pequeña cantidad de emulsión, sin agitar en frascos de 30 ml. con agua y de igual manera en frascos con vaselina líquida.

## **8. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS**

### **8.1 Prueba microbiológica**

En el presente ensayo se utilizaron 2 cepas microbiológicas que representaran 2 grupos de bacterias que son patógenas para el hombre y que entre sí tienen características metabólicas, morfológicas y titoreales muy diferentes. Ambas bacterias son representativas de 2 grupos: a) *Escherichia coli* (*E. coli*) es un bacilo Gram negativo y generalmente se puede localizar en el intestino humano y b) *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) el cual es un coco Gram positivo, que generalmente se encuentra en vías respiratorias.

Este criterio se tomó en cuenta, usando como ejemplo el aplicado en el uso de los antibióticos, esto es existen antibióticos que actúan sobre microorganismos Gram negativos y otros que lo hacen contra bacterias Gram positivas, sin dejar de ver que existen los denominados de amplio espectro, esto quiere decir que actúan tanto contra Gram positivos como negativos.

A continuación, se muestra los resultados del antibiograma como se detalló en el punto 7.4., las medidas expresadas en milímetros corresponden a los halos de inhibición que se presentan entre el producto y los microorganismos.

En los siguientes antibiogramas (Tabla 4 y 5) se realizó utilizando el extracto comercial Rosa Elena y 3 concentraciones diferentes de este (0.1%, 0.2% y 0.3%).



**Tabla 4. Antibiograma 1 *E.coli***

Caja	Extracto RE	Dilución 1:10	Dilución 2:10	Dilución 3:10	Fenoxietanol
1	9.0 mm	0.0 mm	0.0 mm	8.0 mm	16.0 mm
2	8.8 mm	0.0 mm	0.0 mm	6.9 mm	12.5 mm
3	9.4 mm	0.0 mm	7.0 mm	7.4 mm	15.0 mm
<b>Promedio</b>	9.0 mm	0.0 mm	2.3 mm	7.4 mm	14.5 mm

Abreviaturas: Rosa Elena (RE)

**Tabla 5. Antibiograma 1 *S. aureus***

Caja	Extracto RE	Dilución 1:10	Dilución 2:10	Dilución 3:10	Fenoxietanol
1	10.3 mm	0.0 mm	6.0 mm	8.5 mm	19.0 mm
2	13.0 mm	0.0 mm	7.0 mm	10.0 mm	13.3 mm
3	9.0 mm	0.0 mm	7.0 mm	8.2 mm	18.8 mm
<b>Promedio</b>	10.7 mm	0.0 mm	6.6 mm	8.9 mm	17.0 mm

Abreviaturas: Rosa Elena (RE)

En los siguientes antibiogramas (Tabla 6 y 7) Se comparó el extracto comercial Rosa Elena con el mismo extracto, pero de forma concentrada, el proceso de preparación se explicó previamente en el punto 7.4.2. Cabe mencionar que tiene columnas que son duplicaciones de cada prueba.

**Tabla 6. Antibiograma 2 *E.coli***

Caja	Extracto RE	Extracto RE	Extracto T	Extracto T	Fenoxietanol
1	7.7 mm	7.4 mm	7.0 mm	6.5 mm	14.5 mm
2	8.1 mm	6.9 mm	8.1 mm	6.9 mm	17.1 mm
3	7.6 mm	8.3 mm	7.9 mm	7.4 mm	18.5 mm
<b>Promedio</b>	7.8 mm	7.5 mm	7.6 mm	6.9 mm	16.7 mm

Abreviaturas: Rosa Elena (RE), Tratado (T)

**Tabla 7. Antibiograma 2 *S. aureus***

Caja	Extracto RE	Extracto RE	Extracto T	Extracto T	Fenoxietanol
1	10.1 mm	8.1 mm	9.5 mm	10.4 mm	22.0 mm
2	8.8 mm	9.0 mm	7.8 mm	8.4 mm	15.6 mm
3	7.2 mm	9.4 mm	8.3 mm	9.1 mm	18.0 mm
<b>Promedio</b>	8.7 mm	8.8 mm	8.5 mm	9.3 mm	18.5 mm

Abreviaturas: Rosa Elena (RE), Tratado (T)

En los siguientes antibiogramas (Tabla 8 y 9) se valoró el extracto elaborado en el laboratorio N-111, comparado con el extracto comercial Rosa Elena. También se estudió para ver la potencialidad de los extractos combinados con el fenoxietanol, en proporción 1:1

**Tabla 8. Antibiograma 3 *E.coli***

Caja	Extracto RE	Extracto LAB	R/F	L/F	Fenoxietanol
1	7.0 mm	10.5 mm	7.0 mm	14.3 mm	17.3 mm
2	8.1 mm	10.2 mm	8.0 mm	19.0 mm	19.4 mm
3	7.4 mm	7.6 mm	8.1 mm	16.0 mm	19.3 mm
<b>Promedio</b>	7.5 mm	9.4 mm	7.7 mm	16.4 mm	18.6 mm

Abreviaturas: Rosa Elena (RE), Lab N-111 (LAB), Combinación del Extracto comercial Rosa Elena con fenoxietanol (R/F), Combinación Extracto Lab N-111 con fenoxietanol (L/F)

**Tabla 9. Antibiograma 3 *S. aureus***

Caja	Extracto RE	Extracto LAB	R/F	L/F	Fenoxietanol
1	9.0 mm	10.3 mm	11.6 mm	25.3 mm	25.7 mm
2	9.6 mm	11.2 mm	13.0 mm	22.1 mm	21.0 mm
3	10.1 mm	9.4 mm	10.4 mm	24.1 mm	20.3 mm
<b>Promedio</b>	9.5 mm	10.3 mm	11.6 mm	23.8 mm	22.3 mm

Abreviaturas: Rosa Elena (RE), Lab N-111 (LAB), Combinación del Extracto comercial Rosa Elena con fenoxietanol (R/F), Combinación Extracto Lab N-111 con fenoxietanol (L/F)

En el primer antibiograma (Tabla 4 y 5) se observa una relación directamente proporcional con la concentración y el halo de inhibición. En la primera dilución al 0.1% no hay efecto inhibitorio. Sin embargo, en las dos siguientes diluciones sí se presenta. El halo de inhibición de Rosa Elena (HIRE) en *E.coli* presento 9.0 mm y del extracto diluido al 0.3% (HIRE0.3%) 7.4 mm con una relación de  $9.0/7.4 = 1.21$  veces comparativamente con el halo de inhibición del extracto diluido a 0.2%, (HIRE0.2%) de 2.3 mm con una relación de  $9.0/2.3 = 3.91$  veces mayor, esto quiere

decir que hay un intervalo menor (1.21) del HIRE con la concentración al 0.3%. De igual manera para *S. aureus*, ya que el HIRE presento 10.7 mm y del HIRE0.3% 8.9 mm con una relación de  $10.7/8.9= 1.20$  veces comparativamente con el HIRE0.2% de 6.6 mm con una relación de  $10.7/6.6= 1.61$  veces mayor. Lo que indica que mientras más solución problema tiene la dilución se presenta mejor inhibición y esta se intensifica en la concentración al 0.3% que en la 0.2%, por lo que el extracto comercial Rosa Elena tiene un efecto mayor estando concentrado, es decir sin ninguna dilución. No obstante, se observó un mayor halo en el fenoxietanol en las dos bacterias trabajadas. Cabe mencionar que las diluciones mencionadas se realizaron con solución salina isotónica.

El segundo antibiograma se concentró el extracto comercial Rosa Elena y los resultados obtenidos se muestran en las tablas 6 y 7. El HIRE en *E.coli* presento 7.65 mm y del halo de inhibición del extracto tratado (HIET) 7.25 mm con una relación de  $7.65/7.25= 1.05$  veces comparativamente con 9.05 mm que presentó HIRE en *S. aureus* y 8.55 el HIET con una relación de  $9.05/8.55= 1.05$  veces similar, lo que se analiza que no existe cambio significativo entre la solución original y la concentrada al 50%, esto sugiere no haber ningún cambio en la composición del extracto al ser sometido al tratamiento previamente mencionado.

El tercer antibiograma (Tabla 8 y 9) se hizo una evaluación del extracto Lab N-111 comparado con el extracto Rosa Elena y adicionados de fenoxietanol como se indica en cada tabla, en una concentración de 1:1, esto con el objetivo de apreciar si existe una potencialidad de los extractos combinados con los productos antes mencionados.

El HIRE en *E.coli* presento 7.5 mm y del extracto Lab N-111 (HILAB) 9.4 mm con una relación de  $9.4/7.5= 1.25$  veces comparativamente con 9.5 mm del HIRE en *S. aureus* y 10.3 mm del HILAB con una relación de  $10.3/9.5= 1.08$  veces menor, esto quiere decir que hay una mejor actividad por parte de los extractos contra *S. aureus* ya que estos presentaron mayor halo de inhibición, lo que indica que el extracto es más efectivo contra las bacterias Gram positivas por sus sustancias antimicrobianas, mientras que *E.coli* que es Gram negativa al poseer doble membrana (membrana externa y membrana citoplasmática), a los agentes microbianos le es difícil actuar de manera potencializada y estos no llegan a alterar la estructura celular de la mayoría y provocar la apoptosis, lo que visualiza en los resultados al no tener un halo de inhibición considerable.

El halo de inhibición de la combinación del extracto Rosa Elena con fenoxietanol (HIR/F) en *E.coli* presento 7.7 mm y el halo de inhibición de la combinación del extracto Lab N-11 con fenoxietanol (HIL/F) 16.4 mm con una relación de  $16.4/7.7= 2.12$  veces comparativamente con el HIR/F de 11.6 mm de *S. aureus* y 23.8 mm del HIL/F con una relación de  $23.8/11.6= 2.05$  veces menor lo que se deduce que el extracto comercial Rosa Elena con fenoxietanol en presencia de *E. coli* no parece ampliar su efecto antimicrobiano, en tanto que, para *S. aureus* se puede observar

un ligero efecto potencializador de su actividad bactericida, por otro lado, en el extracto Lab N-111 con el fenoxietanol se observó un efecto bacteriano directo contra los 2 tipos de bacterias, presenta un sensible efecto potencializador y este se duplica su acción bacteriana.

Cabe mencionar que se observó la presencia de una difusión amarilla intensa alrededor del halo en el extracto comercial Rosa Elena, esto se debe a que el patógeno está generando algún tipo de metabolito, mientras que en el extracto Lab N-111 se observa que genera metabolitos de manera viscosa, este efecto puede estar provocando un daño subletal (bacteriostático), ya que en la difusión amarillenta se observa cepa bacteriana, por otro lado el halo formado puede estar provocando un daño letal a la célula (bactericida) ó simplemente provocar un estrés celular (Pantoja, Y. L., et al., 2007), cualesquiera de estos efectos pueden ser ocasionados por los componentes de la Moringa especialmente de: 4-(L-ramnopiranosiloxi) isotiocinato de bencilo, metil N-4-(L-ramnopiranosiloxi) bencil carbamato, 4-(D-glucopiranosil-1, 4-Lramnopiranosiloxi)- tiocarbozamida y algunos otros como los compuestos fenólicos presentes como se indica en la literatura investigada (Oluduro, O., et al. 2010).

Por otro lado el halo de inhibición intensificado en la bacteria Gram positiva pueda deberse a que las sustancias antimicrobianas al absorberse dentro de la célula, pueden provocar una serie de alteraciones sobre la estructura celular, dando como resultado un daño en la integridad formando poros en la membrana y una posible fuga de iones potasio y de macromoléculas como los ácidos nucleicos causando muerte celular o sólo un ligero estrés en las células bacterianas en los primeros momentos de contacto, no obstante, conforme transcurre el tiempo de contacto, el estrés provocado por las sustancias antimicrobianas es posible que se intensifique causando un daño letal, impidiendo así su reproducción y frenando rápidamente el crecimiento de la población (Pérez K., 2017).

La sinergia del extracto de Moringa N-111 adicionado con el conservador químico tuvo una mayor respuesta microbicida, lo que a la formulación O/W le es adecuada y esta se utilizará en la formulación a un porcentaje de 1% para el extracto Lab N-111 y 1% para el fenoxietanol, sin embargo, en otro proyecto es posible y aconsejable realizar un estudio cambiando diferentes porcentajes del extracto de Moringa para encontrar el grado óptimo de efectividad antimicrobiana.

## 8.2 Formulación de la crema hidratante O/W

Tabla 10. Tabla comparativa de las 9 formulaciones obtenidas por Diseño factorial con relación a sus concentraciones.

Materia Prima	[ ]	Punto fusión (°C)	Función	Número de corridas (%)									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Glicerina	<30	17.8	Humectante	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Urea	<5	133	Complejo humectante	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Tween 60	1.0-15	Ind	Emulsificante	3.08	4.53	1.54	4.23	4.62	3.02	1.51	2.82	1.41	
Vaselina líquida	1.0–32.0	Ind	Oclusivo	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Span 60	0.5-5	Ind	Emulsificante	1.92	2.97	0.96	3.27	2.88	1.98	0.99	2.18	1.09	
Alcohol Cetílico	2.0-5.0	46-53	Opacificante, Emoliente	2.50	3.00	2.50	5.00	2.50	3.00	3.00	5.00	5.00	
Manteca de Karité	-	29 – 33	Emoliente	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Agua	cbp	0	Diluyente	72.50	69.50	75.00	67.50	70.00	72.00	74.50	70.00	72.50	
TOTAL				100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Abreviaturas: Indeterminado (Ind), Concentración ( [ ] ), Cuanto baste para (cbp)

En la tabla número 10 se muestra el diseño factorial ejemplificando sus 9 formulaciones que se utilizaron, estas con sus respectivos pesos, concentraciones, funciones y puntos de fusión según la literatura empleada. De las 9 formulaciones realizadas basadas en el método de fabricación 6.5.1, se omitieron los conservadores (Aceite de Moringa y fenoxietanol), los gramos restantes se compensaron con agua, esto para elegir la formula base más estable de acuerdo a sus características organolépticas, la cual tuvo mejor respuesta la formulación número 1. (véase en anexos figura 28).

**Tabla 11. Formulación Final de la emulsión O/W**

<b>Materia Prima</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Gramos</b>
Glicerina	3.00	12.00
Urea	4.00	16.00
Tween 60	3.08	12.32
Vaselina liquida	10.00	40.00
Fenoxietanol	1.00	4.00
Span 60	1.92	7.68
Alcohol Cetílico	2.50	10.00
Manteca de Karité	3.00	12.00
Aceite de moringa	1.00	4.00
Agua	70.50	282.00
Total	100.00	400.00

En la tabla número 11 se muestra la formulación final, una vez seleccionada la emulsión número 1, se adicionó 1% de extracto de moringa Lab-N11 y 1% de fenoxietanol para observar si estos porcentajes podrían afectar la estabilidad, con base a los resultados de inhibición, ya que aumento el halo al usar la combinación de estos.

El proceso de fabricación se siguió como se indica en el punto 7.5.2, se formuló 400g. de crema hidratante, este se hizo por triplicado para evaluar la reproducibilidad de dicha formulación. (véase en anexos figura 29). Finalmente, para ser sometidos a estabilidad por un periodo de 1 mes a las condiciones antes mencionadas.

### 8.3 Pruebas de estabilidad

#### 8.3.1 Características organolépticas

Tabla 12. Propiedades organolépticas de una formulación hidratante O/W

PARÁMETRO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO	RESULTADO FINAL
Apariencia	Sólido, libre de partículas extrañas	Normal, sin alteración	Aceptación
Color	Blanco	Normal, sin alteración	Aceptación
Olor	Indoloro	Normal, sin alteración	Aceptación
Sensación del tacto	Fresca e Hidratante	Normal, sin alteración	Aceptación

En la tabla número 12 muestra los parámetros analizados de la formulación seleccionada. Las muestras del producto se clasificaron según los siguientes criterios: normal, sin alteración, ligeramente modificada, modificada, intensamente modificada.

La especificación en el parámetro apariencia: es sólido, libre de partículas extrañas, lo que mostró un normal sin alteraciones, en la especificación de color es blanco, en olor la especificación es indoloro y de igual manera no presentó alteración y finalmente en el parámetro de sensación tuvo una sensación hidratante, lo que representa que todos los parámetros analizados estuvieron normales sin alteraciones según la especificación establecida, esto demuestra una aceptación final para las pruebas organolépticas (véase en anexos figura 29).

#### 8.3.2 Evaluación física

Tabla 13. Reproducibilidad de una formulación hidratante O/W

NÚMERO DE FORMULACIÓN	PARÁMETRO		
	Viscosidad	pH	Densidad
1	18,420 cps.	6.59	0.9910
2	18,280 cps.	6.57	0.9913
3	18,800 cps.	6.61	0.9924

Abreviaturas: Centipoise (cps)

En la tabla número 13 se muestra la replicación de la formulación seleccionada, esta se realizó por triplicado para verificar una buena reproducibilidad dando como resultados 18,420cps, 18,280cps y 18,800cps de viscosidad, 6.59, 6.57 y 6.61 de pH, mientras que de densidad se obtuvo 0.9910, 0.9913 y 0.9924 g/mL, lo que indica que la metodología tiene resultados similares y éste método es reproducible.

### **8.3.3 Determinación del signo de emulsión O/W ó W/O**

Con los resultados de las pruebas descritas, se observa que al poner una pequeña cantidad de emulsión durante 24 horas en los frascos que contenían agua se pusieron turbios, ya que es soluble en su fase externa, a diferencia de las emulsiones en los frascos con vaselina líquida permanecieron inalterables (Véase en anexos número 30 y 31).

## **9. CONCLUSIÓN**

Se logró estudiar el extracto de *Moringa oleífera* determinando la concentración mínima inhibitoria iniciando al 0.2%, con un mayor halo al 0.3% contra *S. aureus* y *E. coli*. Así mismo se consiguió formular una crema hidratante (tipo O/W que se pudo comprobar con la determinación del signo de emulsión), ya que aporta sustancias emolientes y humectantes que permitirán, restaurar la barrera lipídica y mantener la hidratación epidérmica, empleando dicho extracto contra la resequedad asociada con la diabetes. Se pudo obtener por diseño Factorial el número de formulaciones más probables y así seleccionar la formulación más estable al someterse a pruebas de estabilidad a temperatura ambiente oscuridad y 40°C. Para saber si alguna materia prima interfiriera con los resultados se tendría que hacer un antibiograma con el vehículo solo, por esta razón no se realizó un antibiograma de la formulación final.

Los resultados de los análisis microbiológicos obtenidos, permitieron verificar que la elección del sistema conservador fue adecuada lo que cumple con la hipótesis ya que el extracto de Moringa tiene un efecto inhibitorio contra *Staphylococcus aureus* y *Echerichia coli*. El extracto empleado tuvo mayor impacto por las Gram positivas (*S. aureus*), ya que presentó un mayor halo en comparación con la Gram negativas (*E. coli*). No obstante, la sinergia del extracto de Moringa Lab N-111 con el conservador químico Rosa Elena potencializó la respuesta antimicrobiana, ya que presentó un halo de inhibición intensificado esto representa una nueva opción en el tratamiento de la DM, ya que estos permitirán un buen sistema conservante e hidratante en cremas O/W para diabéticos.



## 10. RECOMENDACIONES

-Se recomiendan pruebas preliminares que permitan determinar cualitativamente la presencia de determinados grupos de compuestos que indiquen el efecto antimicrobiano.

-Se aconseja la investigación de mezcla de extractos con actividad microbiológica, por ejemplo, el extracto de Romero.

-Se recomienda extender la investigación de aplicación de actividad antimicrobiana en otros agentes patógenos como *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* y *Pseudomonas spp*

## 11. REFERENCIAS

- ANVISA (2005). Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. 1a Edición. Volumen 1.
- Bonal R., Rivera R. y Bolívar M. (2012) 'Moringa oleifera: una opción saludable para el bienestar', Medisan, 16(10), pp. 1596–1598
- Cáceres, A. et al. (1991) Pharmacological properties of M. oleifera. Preliminary screening for antimicrobial activity. J. Ethnopharmacology. 33:213.
- Carlucci, A. M., Cicconi Vidal, M. y Bregni, C. (2004) 'Las microemulsiones como vehículos para administración de drogas', Acta Farmacéutica Bonaerense, 23(4), pp. 550–557
- Castelli, MV., Cozzi, MV., López, SN., Derita, MG. (2015) Búsqueda de Agentes Conservantes a partir de productos naturales bioactivos, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531, Rosario. pp. 63-67.
- Chuang, P.H. et al. (2007) Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of Moringa oleifera Lam. Bioresource Technology. 98:232.
- Cohen E., Cabo H. y Puchulu F., (2013) "Diabetes y piel". 1ª ed. Buenos Aires: Journal.
- Cosmetologaschilecom. (2016) Diabetes vs Piel. Consultado el 9 de septiembre 2017. Disponible en: <http://www.cosmetologaschile.cl/diabetes-vs-piel/>
- Diabetes, N. and Clearing house, I. (s/f) 'Evite los problemas de la diabetes Mantenga los pies y la piel sanos'. Consultado el 9 de septiembre 2017. Disponible en: [file:///C:/Users/hanni/Downloads/FEET-SP\\_508.pdf](file:///C:/Users/hanni/Downloads/FEET-SP_508.pdf)
- Díaz Ley, B., Heras Mendaza, F. y Conde-Salazar Gómez, L. (2006) 'Parabenos: ¿Mito o realidad?', Piel, 21(5), pp. 231–240.
- Domingo, D. y López-Brea, M. (2003). "Plantas con acción antimicrobiana", España: Revista Española de Quimioterapia, 16(4), pp. 285-292.

- Esquivel, P. (2017). Evaluación de aceites esenciales y extractos de plantas en la conservación de cosméticos. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina* (ISSN: 2448-8380), 15.
- Figuerola, D. (1990) "Diabetes". 2ª Ed, Salvat Editores, S.A. Barcelona España.
- Flores Carrillo, M. (2016). Evaluación del efecto sobre el SNC de extractos de hojas de Moringa oleífera en modelos experimentales con roedores. Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Flores J. et al. (2008) "Farmacología Humana". 5 edición. Elsevier. España. PP. 1251-1257
- Folkard, G. (1996) 'Moringa oleífera un árbol con enormes potencialidades', *Ariadne*, 8(3), pp. 5–8.
- Fuentes-Nava, A. G., Mondragón-Chimal, M. A. (2015) 'La importancia de la piel en la diabetes mellitus', *Medicina e Investigación*, 3(1), pp. 61–73.
- Fuglie, L.J. (2001) Combating malnutrition with Moringa. In: *The miracle tree: the multiple attributes of Moringa*. Ed. L.J. Fuglie. CTA Publication. Wageningen, The Netherlands. p. 117.
- García Delgado, R., Escario Travesedo, E. y Sánchez Romero, A. (2004) 'Uso racional de la medicación tópica en dermatología', *Medicina Cutánea Ibero-Latinoamericana*, 32(1), pp. 39–44
- Garcia, D. (2015). Infecciones clínicas en niños con infección por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente tolerante a Vancomicina, comparado con la infección por *S aureus* meticilino resistente sensible a Vancomicina. Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gennaro, Alfonso R. (2003) Remington Farmacia, Ed. Médica Panamericana.
- Goodman y Gillman (2007) "Las bases farmacológicas de la terapéutica". 11 edición. Mc Graw Hill Interamericana. PP. 1679-1681
- Gupta, R. et al. (2012) 'Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of Moringa oleifera in experimental diabetes', *Journal of Diabetes*, 4(2), pp. 164–171
- Hayes Dorado, J. P. (2008) 'DM tipo 1', *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 47(2), pp. 90–96
- Hernández-Barrera, N. R., Moncada, B., Navarrete-Solís, J., Fuentes-Ahumada, C., Torres-Álvarez, B., Castanedo-Cázares, J. P., & Cano-Ríos, P. (2011). Evaluación de cremas humectantes disponibles en México. *Órgano Oficial de la Academia Nacional de Medicina de México, AC*, 147, 270-4.
- Ibarra C., Rocha J., et al. (2012) 'Prevalence of peripheral neuropathy among primary care type 2 diabetic patients.', *Revista médica de Chile*, 140(9), pp. 1126–31.
- Islas S. (2014) "DM". 2ª Ed, McGraw Hill Interamericana Barcelona.

- Juárez, E. (2018). Función de los plásmidos de *E. coli* uropatógena en la adherencia e invasibilidad a células epiteliales. Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Lerazos S., (2002) Conservadores Cosméticos, Volumen, 21(7), pp. 01–04.
- Leung, R., Hou, M. J., & Shah, D. O. (1988). Microemulsions: formation, structure, properties, and novel applications. *Surfactants in Chemical/Process Engineering*, DT Wasan, ME Ginn and DO Shah, eds, 315-353.
- Márquez A., Palazolo G. y Wanger J. (2005) 'Emulsiones tipo crema preparadas a base de leche de soja 2: Efecto de la ag...: EBSCOhost', *EBSCO host*, 56(2), pp. 89–95
- Martín, C. et al. (2013) 'Potenciales aplicaciones de Moringa oleifera. Una revisión crítica', *Pastos y Forrajes*, 36(2), pp. 137–149.
- Méndez, M. R., & Lope, J. H. (1991). La manteca de karité. *Grasas y Aceites*.
- Miguel C. (2019). Evaluación de la estabilidad de productos cosméticos: necesidad y procedimiento. Consultado el 10 mayo. 2019. Disponible en: <http://www.industriacosmetica.net/descargar/articulosdescargadirecta/zNhBUMj43XIQ1ZDO3CYFLNizG>
- Oluduro, O. A., Aderiye, B. I., Connolly, J. D., Akintayo, E. T., & Famurewa, O. (2010). Characterization and antimicrobial activity of 4-( $\beta$ -D-glucopyranosyl-1 $\rightarrow$ 4- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl thiocarboxamide; a novel bioactive compound from Moringa oleifera seed extract. *Folia microbiologica*, 55(5), 422-426.
- Olson, M. E. and Fahey, J. W. (2011) 'Moringa oleifera: Un árbol multiusos para las zonas tropicales secas', *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(4), pp. 1071–1082.
- Organización Mundial de la Salud. (2017). Diabetes. Consultado el 22 agosto. 2017. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- Paniagua, A. y Chora, J. (2016). "Elaboración de Aceite de semillas de Moringa Oleífera para diferentes usos", *Bolivia: Revista de Ciencias de la Salud*, 3(9), pp. 36-46.
- Pantoja, Y. L., et al. (2007). Efecto antimicrobiano de extractos crudos de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) y venadillo (*Swietenia humilis* Zucc) contra *E. coli*, *S. aureus* y el bacteriófago P22. *Bioquímica*, 32(4), 117-125.
- Patiño, L. A., & Morales, C. A. (2013). Microbiota de la piel: el ecosistema cutáneo. *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*, 21(2), 147-158.
- Pérez K., (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana de *M. oleífera* en bacterias patógenas. Licenciatura. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
- Pulla, H. (2014). "Tesis: Evaluación de la estabilidad fisicoquímica y microbiológica de un extracto acuoso de moringa (*Moringa oleífera* Lam),

cosechada en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala”, Ecuador: Universidad Técnica de Machala.

- Reyes Sanamé, F. A. et al. (2016) ‘Tratamiento actual de la DM tipo 2’, *Correo Científico Médico*, 20(1), pp. 98–121
- Robles F. (2017) *Formulación y caracterización de un filtrante de hojas de Moringa oleífera*. Licenciatura. Escuela profesional de ingeniería en industrias alimentarias
- Ríos-Martínez, W. et al. (2013) ‘Complicaciones obstétricas de la diabetes gestacional: criterios de la IADPSG y HAPO’, *Volumen*, 28(1), pp. 27–32.
- Rodríguez, E. N. (2011) ‘Uso de agentes naturales antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas’, *Ra Ximhai*, 7, pp. 153–170.
- Rosas J, Lyra R. Cavalcanti N., (2009) “DM Visión Latinoamericana”. Ed original, Farmacéutica y editora Guanabara Koogan Ltda.
- Sanchez-carpio, v. D. R., & haro-rodriguez, a. M. (2019). Resultados de la aplicación de una crema hidratante para piel seca a base del aceite de moringa en los estudiantes de gastronomía de 9no semestre de la unibe 2018 (Doctoral dissertation, UNIBE).
- Sánchez, Y. A. et al. (2013) ‘Moringa oleífera; Importancia, Funcionalidad y Estudios Involucrados’, *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 5(9), pp. 25–30.
- Schvartzman, S. y Cestilli, M. I., (2013) *Dermatocósmetica: Criterios de formulación Enfoque estético y Terapéutico*. 1ª ed.-Córdoba: EDUCC, Editorial de la Universidad Católica de Córdoba Pp. 38, 200-206.
- Tino Orozco, E. (2015). Efecto de la aplicación de ultrasonido en la extracción y caracterización de aceite de Moringa. Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Tortora G. y Derrickson B. (2007) “Principios de Anatomía y Fisiología”. 11 edición. Buenos Aires: Medica Panamericana. Pp 147-153
- Urquillas Almeida, N. (2017). *Moringa y su uso culinario*. Licenciatura. Universidad de los hemisferios.
- Vega Picón, M. A. (2015) ‘Evaluación de la eficacia del aceite esencial de *Curcuma longa* L. como conservante en una formulación cosmética orgánica’. Maestría. Universidad Politécnica Salesiana.
- Viera, Gustavo Hitzschky Fernandes, Mourão, Jozeanne Alves, Ângelo, Ângela Maria, Costa, Renata Albuquerque, & Vieira, Regine Helena Silva dos Fernandes. (2010). Antibacterial effect (in vitro) of Moringa oleífera and *Annona muricata* against Gram positive and Gram negative bacteria. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 52(3), 129-132.
- Vila Jato, J.L. (2001) “Tecnología Farmacéutica”, Vol. II. Síntesis, Madrid. PP. 305-333.

- Walter, A.; Samuel, W.; Peter, A. & Joseph, O. (2011) Antibacterial activity of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala* methanol and n-hexane seed extracts on bacteria implicated in water borne diseases. *African J. Microbiol. Res.* 5:153.
- Wayne D., (1999). *Bioestadística 4ª edición*. México: Limusa Wiley.
- Weber, R. A., et al. (2007) Evaluación de la eficacia del 2-fenoxietanol como anestésico en el lenguado (*Solea senegalensis*, Kaup, 1858) Instituto de Acuicultura (USC), 15782, Santiago de Compostela, España 25-28.

## 12. Anexos

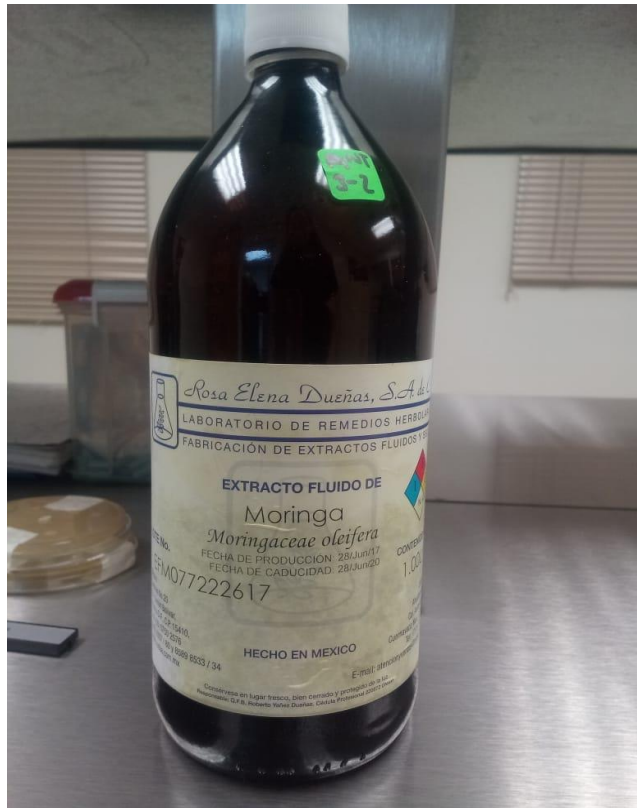
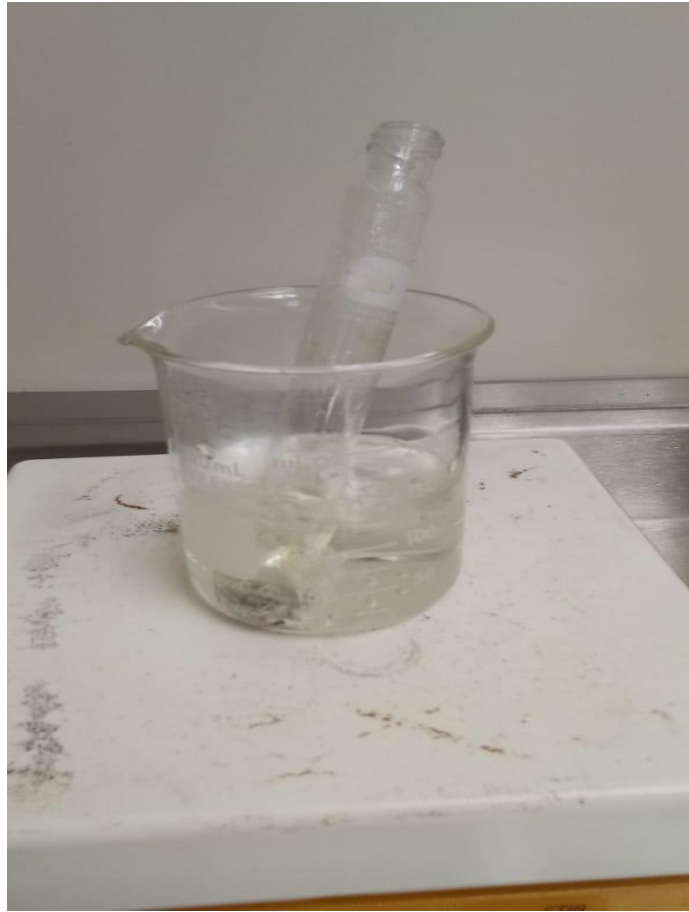


Figura 15. Extracto de Moringa Comercial



Figura 16. Reactivación de cepas bacterias



**Figura 17. Procedimiento de obtención del extracto concentrado**



**Figura 18. Procedimiento de la prueba Antibiograma**



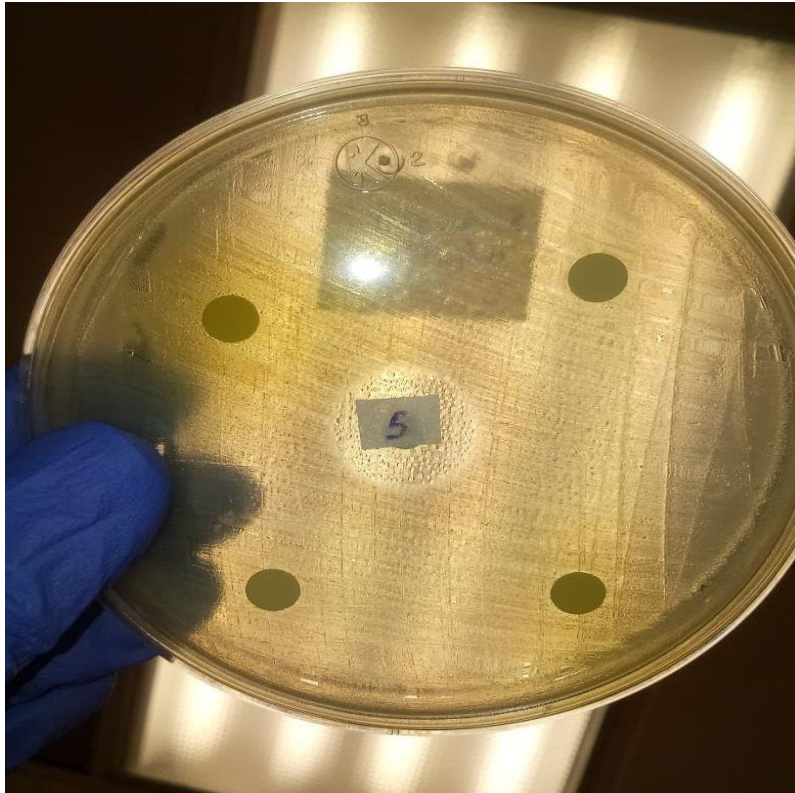


Figura 19. Antibiograma 1 en *S. aureus*

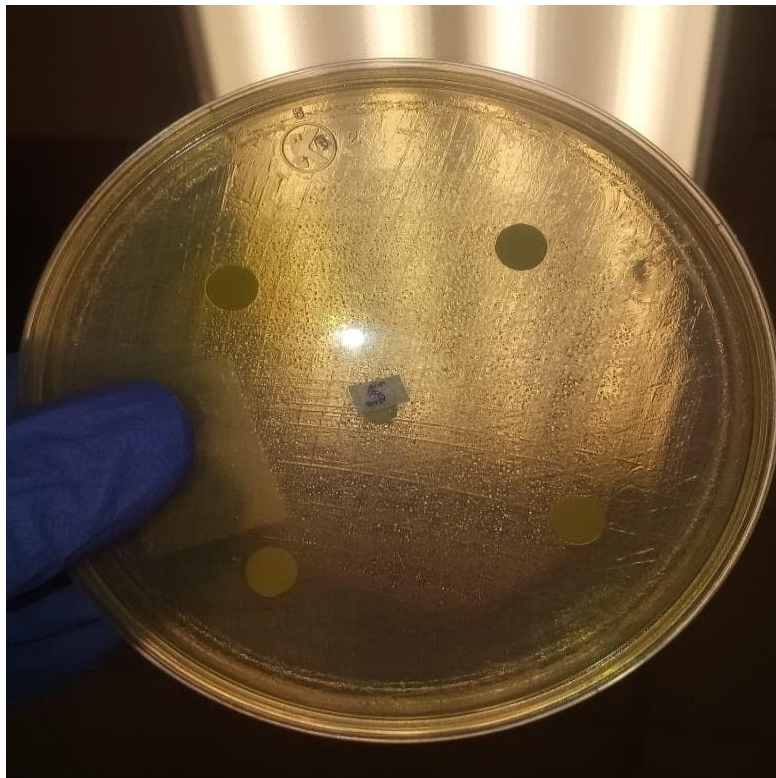
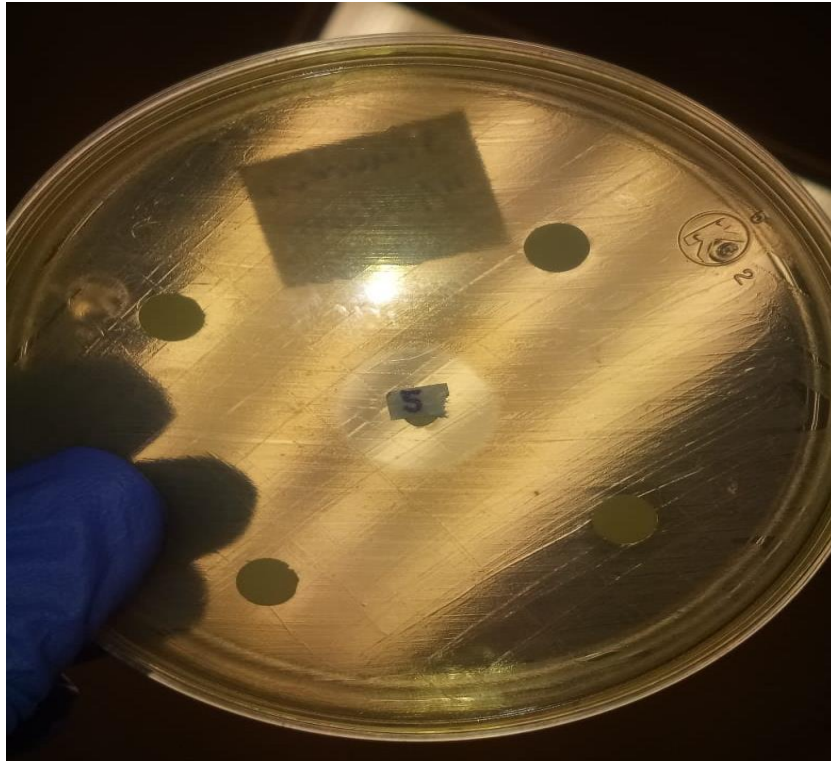
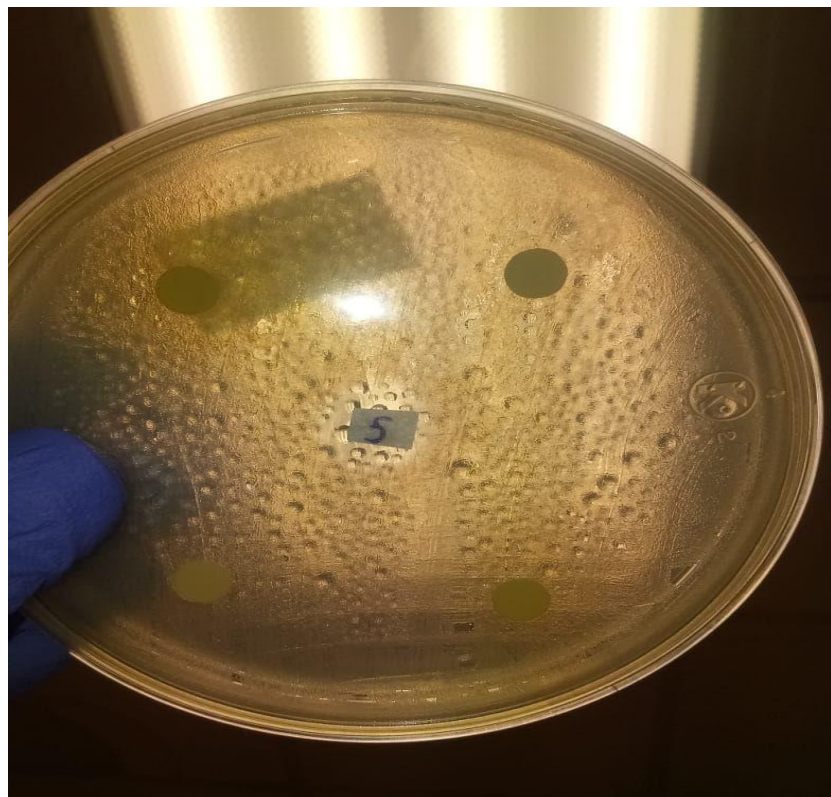


Figura 20. Antibiograma 1 en *E. coli*

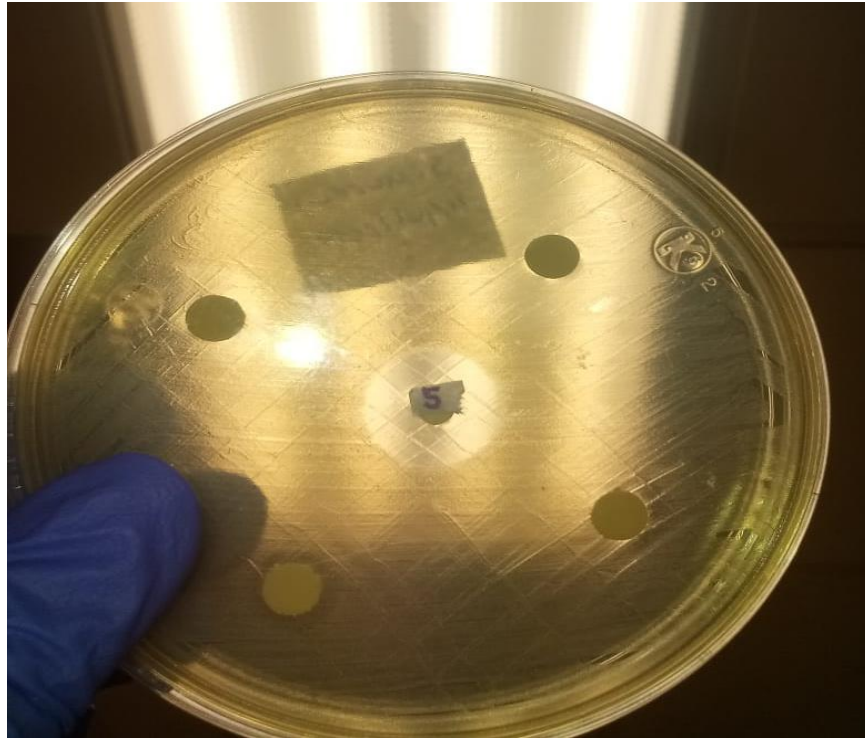




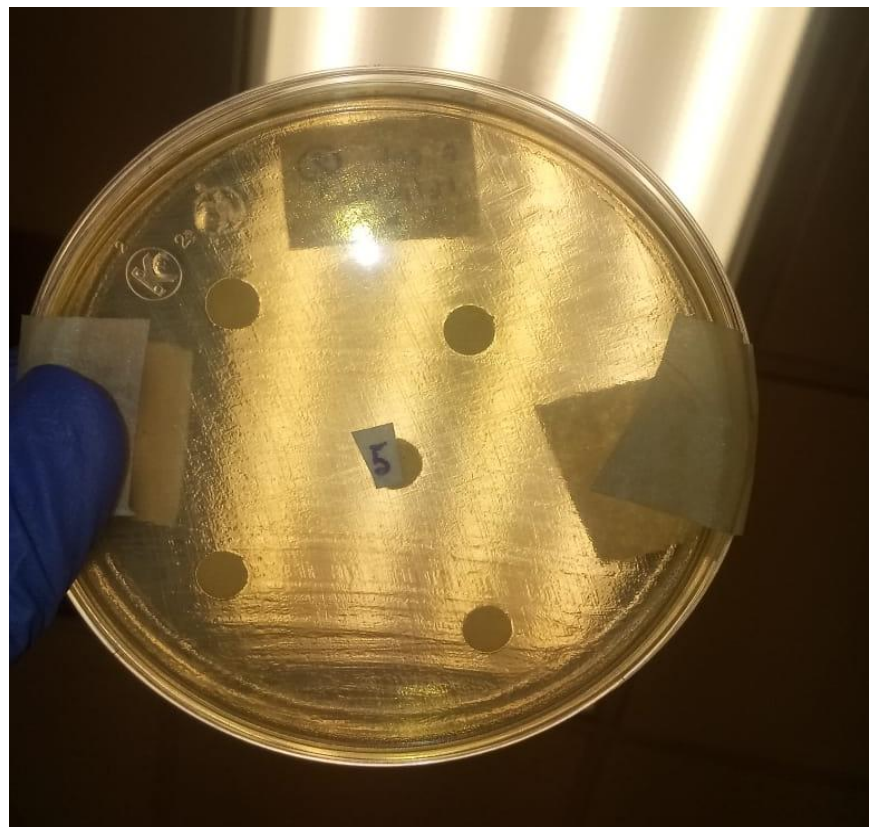
**Figura 21. Antibiograma 2 en *S. aureus***



**Figura 22. Antibiograma 2 en *E. coli***

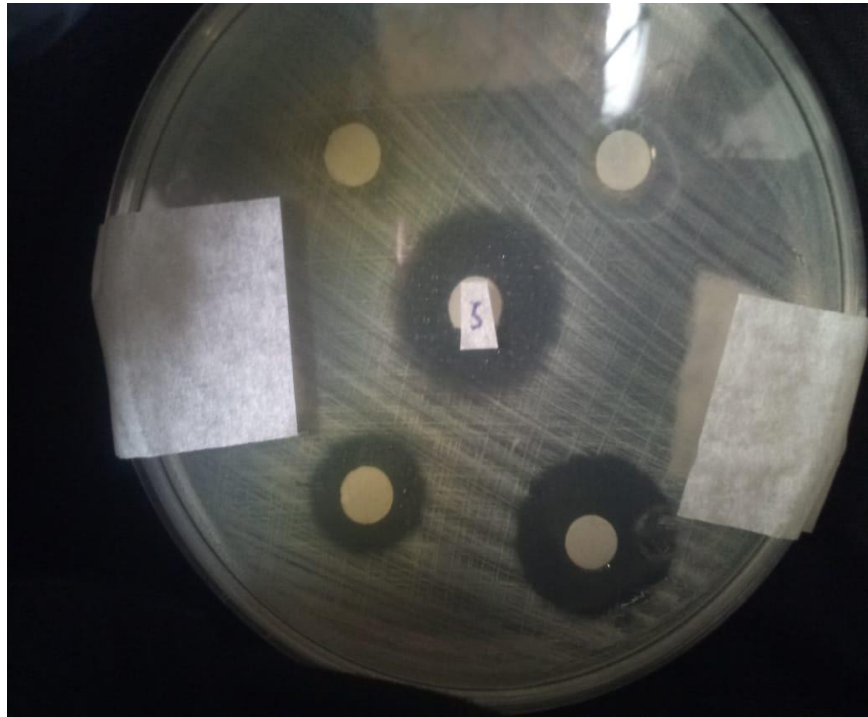


**Figura 23. Antibiograma 3 en *S. aureus***

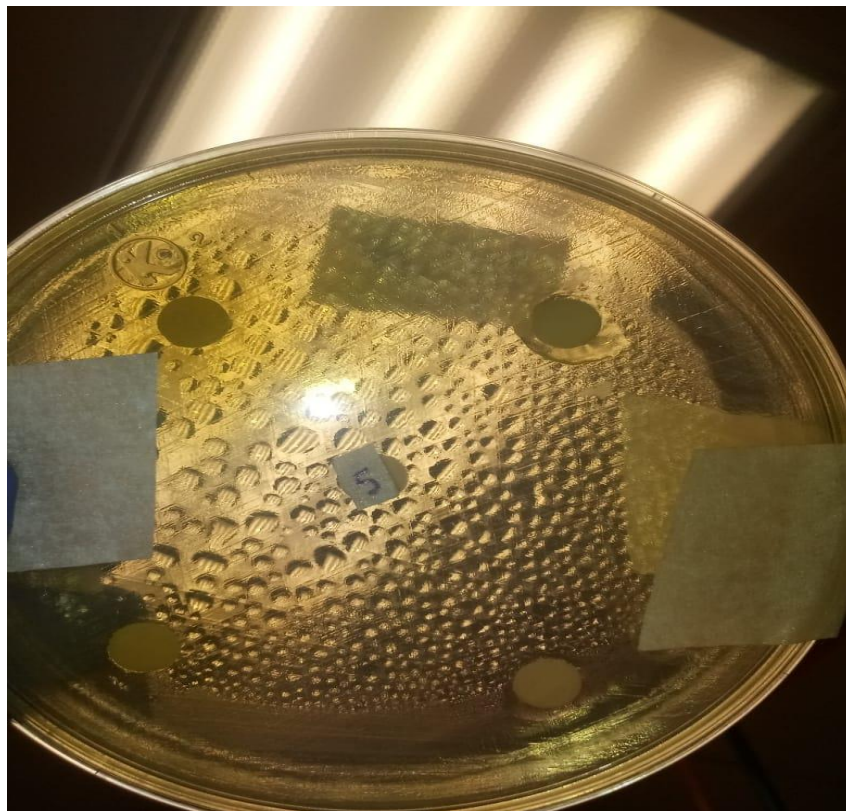


**Figura 24. Antibiograma 3 en *E. coli***





**Figura 25. Antibiograma 4 en *S. aureus***



**Figura 26. Antibiograma 4 en *E. coli***



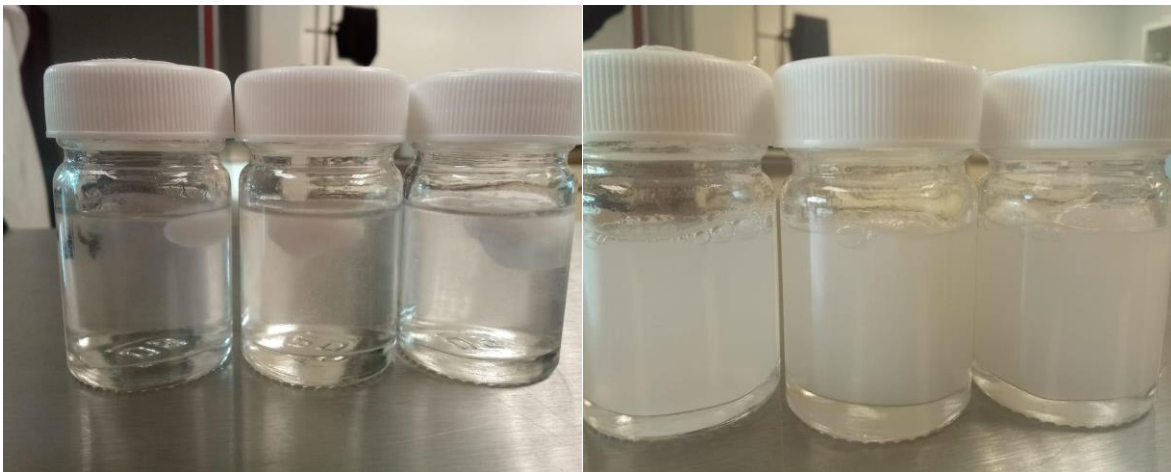
**Figura 27. Formulación de la crema O/W.**



**Figura 28. Selección de la fórmula más estable por propiedades organolépticas**



**Figura 29. Reproducibilidad de la formulación**



**Figura 30. Determinación del tipo de emulsión (Emulsión suspendida en agua)**



**Figura 31. Determinación del tipo de emulsión (Emulsión suspendida en vaselina líquida)**