

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO



Casa abierta al tiempo

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

TÍTULO:

“Propuesta para el diseño de una forma farmacéutica con papaína y aceite de orégano para el tratamiento contra bacterias bucales.”

PROYECTO GÉNÉRICO

Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos

Alumno (a): Elba Lorena Arteaga Ibarra
Matrícula: 2142030271

Asesor interno:

Dra. Norma Angélica Noguez Méndez. No. Eco. 17902

Asesor externo:

M. en I. Alejandro Rubio Martínez. No. de cédula: 9252573

Fecha de inicio: 01/09/2021

Fecha de terminación: 01/03/2022

Duración: 480 horas

Índice

Introducción.....	2
Antecedentes	3
1. ENFERMEDADES BUCALES.....	3
2. TRATAMIENTOS TERAPÉUTICOS DISPONIBLES.....	6
3. FORMAS FARMACÉUTICAS SEMISÓLIDAS (GELES).....	12
Justificación.....	16
Objetivo General	17
Objetivos Específicos	17
Metodología.....	19
Objetivos y metas alcanzados	28
Resultados y Conclusiones	30
Recomendaciones.....	32
Referencias Bibliográficas	33
Anexos	36
Anexo 1 Datos de proveedor de las hojas de <i>Origanum Vulgare</i>	36
Anexo 2 Datos de Papaína comercial.....	37
Anexo 3 Datos de seguridad cepa <i>S. Mutans</i> ATCC25175.	38
Anexo 4 Datos de seguridad cepa <i>S. Aureus</i> ATCC 25923.....	39
Vo. Bo. del (la) o los (las) asesores (as) respecto a los contenidos académicos	40

Introducción

Las enfermedades bucales como la caries dental, enfermedades periodontales: gingivitis, periodontitis y otras infecciones frecuentes, afectan tanto a niños como a adultos. Según estimaciones publicadas en el estudio sobre la Carga Mundial de Morbilidad 2017 (Global Burden of Disease Study 2017), las enfermedades bucodentales afectan a cerca de 3,500 millones de personas en todo el mundo, y la caries en dientes permanentes es el trastorno más frecuente.

Se han encontrado diversos factores responsables de la aparición de caries, entre ellos la principal responsable que es la bacteria *Streptococcus Mutans*. En todo el mundo, 2,300 millones de personas padecen caries en dientes permanentes y más de 530 millones de niños sufren de caries en los dientes de leche.

La caries es la enfermedad dental con mayor prevalencia en México, pues afecta a 95% de la población de entre 20 y 64 años, lo que quiere decir que a nueve de cada diez personas la han padecido o la padecerán en un futuro. Mientras que el segundo lugar lo ocupan las patologías periodontales, las más frecuentes son la gingivitis y la periodontitis, donde se ha reportado que la padece hasta en 70 por ciento de la población según la Academia Americana de Periodoncia.

Otra especie que es muy representativa en la cavidad bucal es el *Staphylococcus aureus*, su presencia como un componente de la flora oral es controversial y puede estar asociada también a infecciones endodónticas, periodontales, periapicales e infecciones supurativas de las glándulas salivares, debajo de prótesis y en pacientes inmunocomprometidos, posee características particulares de virulencia y resistencia a los antibióticos por ello su diseminación es de gran importancia en salud pública.

Actualmente existen diversos cuidados y tratamientos para prevenir estas enfermedades como la higiene bucal, nutricional y la visita regular a los servicios médicos, estas son soluciones donde su resultado radica en la cultura y la educación de las personas, que además de ser una solución a largo plazo,

también suelen ser costosas; por ello es necesario emplear tratamientos alternativos que permitan el tratamiento o la prevención de esta enfermedad.

Por lo anterior, el propósito de este trabajo es realizar una búsqueda bibliográfica abarcando un período de 10 años que permita elaborar una propuesta para el diseño de una forma farmacéutica con papaína y aceite de orégano para el tratamiento contra bacterias bucales.

Antecedentes

1. ENFERMEDADES BUCALES

Las enfermedades bucales son consideradas como un problema de salud pública tanto a nivel nacional como mundial, esto debido a su alta incidencia y prevalencia en la población en general, ya que afecta tanto a niños como adultos. Algunas de estas infecciones pueden prevenirse, sin embargo, algunas otras son más graves y pueden prolongarse a largo tiempo. ^(1,2)

Pueden presentarse por diferentes causas: predisposición genética, mala higiene, tabaquismo, consumo de alcohol, diabetes no controlada, enfermedades autoinmunes, carencias nutricionales, cambios hormonales, mala oclusión dental, etc., sin embargo, la causa mayoritaria de todas ellas es infecciosa, la denominada placa bacteriana. Su formación se inicia al depositarse una capa invisible de glucoproteínas sobre los dientes, sobre la que quedan retenidas las bacterias. ⁽³⁾

Estas bacterias bucales pueden causar caries dental, enfermedades periodontales: gingivitis, periodontitis y otras infecciones frecuentes, siendo el principal responsable la bacteria *Streptococcus Mutans*. Según estimaciones publicadas en el estudio sobre la Carga Mundial de Morbilidad 2017 (Global Burden of Disease Study 2017), las enfermedades bucodentales afectan a cerca de 3,500 millones de personas en todo el mundo, y la caries en dientes permanentes es el trastorno más frecuente. ^(4,5) La periodontitis grave, que puede

provocar la pérdida de dientes, también es muy frecuente, puesto que afecta a casi el 10% de la población mundial. ⁽²⁾

Las enfermedades periodontales son aquellas patologías que afectan a los tejidos que sostienen el diente, denominados periodonto (*peri* [alrededor] y *odonto* [diente]).

El proceso es en 4 fases (figura 1) donde se lleva a una respuesta inflamatoria de los tejidos adyacentes a la pieza dental, inducida por la acción los productos generados y las toxinas bacterianas. Las patologías periodontales más frecuentes son la gingivitis y la periodontitis. ⁽³⁾

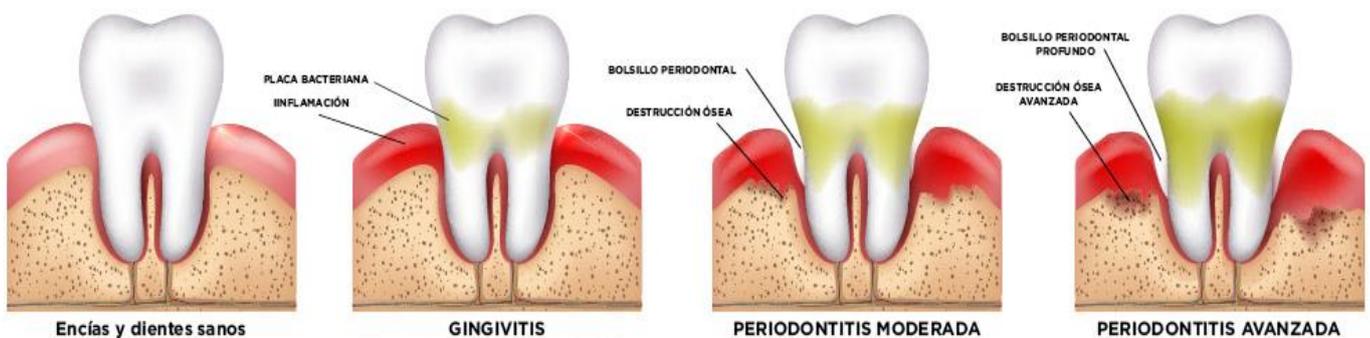


Figura 1. Fases de la enfermedad Periodontal

Fuente: www.kernpharma.com

1.1 Gingivitis

La gingivitis es una lesión reversible que consiste en la inflamación de las encías, es infeccioso y degenerativo, y provoca daños a las estructuras de soporte del diente en diversos grados. ⁽³⁾ Se ha mostrado que la placa bacteriana ubicada sobre las superficies dentales es la responsable del desarrollo de la gingivitis, que es el primer estadio de la mayoría de las formas de la enfermedad periodontal. ⁽⁶⁾

Dentro de los signos más frecuentes se encuentran el enrojecimiento y edema de la encía, sangrado al estímulo, cambios en la consistencia y contorno,

presencia de placa y/o cálculo sin evidencia radiográfica de pérdida de la cresta ósea. ^(7,8)

En México se ha realizado un estudio que refleja una alta prevalencia de la gingivitis, detectándose en edades tempranas (12-18 años), su mayor relevancia es que puede transformarse en periodontitis. Es por ello que en los casos extremos de esta enfermedad se pierden las piezas dentarias, no por caries o algún traumatismo, sino por la falta de inserción en su respectivo hueso alveolar. ^(6,8)

1.2 Periodontitis

Cuando la gingivitis no se diagnostica a tiempo, provoca periodontitis, padecimiento que afecta otros tejidos de soporte como hueso y ligamentos, produciendo retracción de encías, movilidad y separación de dientes, así como procesos infecciosos recurrentes. Se trata de una lesión degenerativa irreversible, normalmente de evolución lenta, que se manifiesta en sus primeros estadios por movilidad de las piezas dentarias y dolor localizado. ⁽³⁾

Es un importante problema de salud pública, causando pérdida de dientes, discapacidad, disfunción masticatoria y estado nutricional deficiente. También compromete el habla, reduce la calidad de la vida y es una carga creciente para la economía. ⁽⁹⁾

En México se ha reportado hasta en 70 por ciento de la población (según la Academia Americana de Periodoncia) y se presenta principalmente en adultos mayores (de 65 años en adelante). ⁽¹⁰⁾

La periodontitis no puede considerarse como un proceso de degeneración senil. Si bien se suele iniciar durante la adolescencia, no empieza a mostrar sus primeras manifestaciones hasta la edad adulta. Sus efectos más graves, es decir la pérdida de piezas dentales, suelen manifestarse a edades avanzadas. ⁽³⁾

En resumen, se puede decir que las enfermedades periodontales son muy prevalentes, tienden a afectar considerablemente a los individuos, sobre todo a la población de adultos mayores, su tratamiento es de largo tiempo y costoso, sin embargo, si se detecta a tiempo y se tiene una educación higiénica bucal adecuada, pueden ser prevenibles. ^(3,9)

2. TRATAMIENTOS TERAPÉUTICOS DISPONIBLES

Los distintos tratamientos que actualmente existen para prevenir estas enfermedades son la higiene bucal, nutricional y la visita regular a los servicios médicos, estas son soluciones donde su resultado radica en la cultura y la educación de las personas, que además de ser una solución a largo plazo, también suelen ser costosas, ya que en los casos avanzados es necesario usar procedimientos quirúrgicos. Por ello se proponen otros tratamientos alternativos que permitan la prevención de estas enfermedades. ^(3,9)

La fitoterapia, se define como la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, para prevenir, aliviar o curar un estado patológico, o con el objetivo de mantener la salud. ⁽¹¹⁾

La mayoría de las plantas presentan efectos fisiológicos múltiples, debido a que poseen más de un principio activo, éstos corresponden a compuestos químicos propios de la planta que están sometidos a una serie de variables físicas tales como: humedad del suelo, condiciones de luz, temperatura, factores ambientales, entre otros. ⁽¹²⁾

La eficacia se logra con el uso adecuado de los preparados, tanto en lo que se refiere a las indicaciones, como a la forma de administración. Es necesario disponer de medicamentos con calidad, seguridad y eficacia contrastados, así como de herramientas de información rigurosas y fiables para los profesionales sanitarios. ⁽¹¹⁾

En el ámbito odontológico, el importante crecimiento mundial de la fitoterapia dentro de programas preventivos y curativos ha estimulado la investigación con el fin de avalar la actividad antimicrobiana de distintos extractos de plantas con

el fin de ayudar en el control de la placa bacteriana y por consiguiente en la disminución de la incidencia de caries dental y enfermedad periodontal. Como se ha mencionado anteriormente las principales enfermedades bucales están relacionadas con microorganismos alojados en la placa dental; la cual, si no se controla o elimina, generara caries dental y enfermedad periodontal. ⁽¹²⁾

Los productos de origen fitoterapéutico, son de gran utilidad, ya que parten de una materia prima más económica y natural, y además existe un gran número de estas que poseen alguna actividad frente a microorganismos, es por ello que se utilizan estas propuestas para el tratamiento de enfermedades bacterianas.

2.1 Papaína

2.1.1 Características de la papaína

La papaína es una enzima proteolítica similar a la pepsina humana que se extrae de la papaya, *Carica papaya*, originaria de América Central, proveniente del látex de las hojas y frutos de la papaya verde madura. Empleada desde hace muchos años por sus excelentes propiedades ya que posee actividad bactericida, bacteriostática y antiinflamatoria. ^(13,12)

La *Carica papaya* es una planta herbácea de crecimiento rápido y de vida corta de 7 a 15 años, de porte singular, puede llegar a medir 7.5 metros o más. Los análisis fitoquímicos dan a conocer que esta especie vegetal posee flavonoides, saponinas, taninos, glucósidos y antraquinonas. ⁽¹⁴⁾ Posee dos componentes biológicamente activos: la Quimopapaína y la Papaína ambas contenidas en las hojas del árbol y el látex de la fruta no madura. La primera es más estable en el medio ácido pero su actividad proteolítica es menos marcada. ⁽¹²⁾

Se compone de 212 aminoácidos con un peso molecular de 23,000 daltons, en la unión de su cadena doblada se encuentra el sitio activo. Tiene tres sitios en los cuales dos moléculas de cisteína están unidas por un enlace de disulfuro entre dos cadenas paralelas, además contiene un grupo tiol libre (-SH) del que depende su actividad enzimática, ya que es su sitio activo. La papaína además

de hidrolizar proteínas, también lo hace con pequeños péptidos, aminas, esterés, carbohidratos y grasas. ⁽¹⁵⁾

La papaína purificada es casi completamente soluble en agua e insoluble en solventes orgánicos, y puede conservar su actividad enzimática por un periodo de 6 a 12 meses si se mantiene refrigerada. ⁽¹⁵⁾

2.1.2 Extracto de papaína y su empleo farmacéutico

La composición del látex que se extrae de la papaya varía según el país de origen, pero en promedio es 15% materia seca, de los cuales el 40% está formado por un complejo enzimático que incluye la papaína, la quimopapaína, la caricaína y la glicina endopeptidasa. ⁽¹⁵⁾

El complejo enzimático puede perder rápidamente su actividad por la oxidación, por tanto, en el momento de la extracción se debe evitar el contacto del látex con el aire, el agua y los metales pesados. Algunos factores que provocan pérdida en la actividad enzimática de la papaína son: exposición prolongada al aire, exposición al sol, coagulación, cambios de pH, crecimiento microbiano, calentamiento por encima de 70°C, contacto con metales pesados como hierro, zinc y mercurio. Los rendimientos de látex seco reportados por la literatura son entre 50 y 70 kg de papaína cruda por hectárea, durante un periodo de explotación de 5 años. Otros autores mencionan que a partir de 1 kg de papaya se puede obtener 9 g de látex. Después de ser extraído el látex, lleva un tratamiento de purificación, para finalmente obtener la papaína. ⁽¹⁵⁾

La papaína se ha empleado en la industria más que cualquier otra proteasa de origen vegetal. Tiene gran cantidad de aplicaciones en la industria alimenticia: para el ablandamiento de carnes, la elaboración de cerveza, en la industria farmacéutica, la industria textil, el tratamiento de efluentes industriales, la manufactura de cueros, entre otros. ⁽¹²⁾. Se encuentra disponible en el mercado de diferentes formas físicas como comprimidos, geles, cremas, suspensiones acuosas, polvo liofilizado y polvo crudo. ^(14,15)

En la Industria farmacéutica y cosmética la papaína puede utilizarse en la terapia de diversas enfermedades digestivas, ya que favorece la digestión de proteínas, además de tener efecto anticoagulante, también presenta una actividad amebicida, es una agente antitoxina principalmente contra la toxina de la difteria y tétanos. ⁽¹⁴⁾ Se ha descrito que la papaína es una de las plantas medicinales más usadas en la prevención de las complicaciones de la Diabetes mellitus como son las complicaciones vasculares, metabólicas, retinopatías, desórdenes digestivos, entre otros. ^(12,14)

Se encuentra generalmente combinado con la Bromelina, esta deriva de la piña y es una enzima con acción proteolítica para una mejor asimilación de los aminoácidos que las componen. La bromelina deshace las proteínas de igual manera que la pepsina, enzima que forma parte del jugo gástrico. ^(14,15) Con Clorhidrato de Metoclopramida y Dimeticona, como coadyuvante en el tratamiento de esofagitis, hernia hiatal, gastritis, síndrome ácido péptico y en quimioterapia antineoplástica. Disminuye las molestias de la endoscopía y radiología de tubo digestivo alto. Facilita la intubación del tubo digestivo alto. Antiemético, y con Tripsina y Quimotripsina, es un enzimático fibrinolítico útil en procesos inflamatorios crónicos y degenerativos en general. Para el tratamiento de procesos infecciosos virales causados por el virus de varicela zoster. ⁽¹⁵⁾

Estudios han demostrado que la papaína presenta acción antibacteriana pues inhibe el crecimiento de microorganismos Gram positivos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y Gram negativos como *Escherichia coli*, *Porphyromona vulgaris*, *Salmonella* entre otros. Se ha demostrado que también es efectiva inhibiendo hongos levaduriformes como *Cándida albicans*. ⁽¹²⁾

En odontología actualmente se utiliza un gel a base de papaína "Papacarie", para adormecer el tejido cariado y poder removerlo por medio de curetaje sin necesidad de anestesia, pues debido a que tiene un pH más básico que la dentina atraviesa los túbulos dentinarios hasta alcanzar las prolongaciones nerviosas presentes en esa región. ⁽¹²⁾

2.2 Orégano

2.2.1 Características del orégano

El orégano (*Origanum Vulgare*), pertenece a la familia Labiaceae, y es una planta herbácea muy aromática, que puede llegar a alcanzar el metro de altura, originaria de Europa y Asia. Comprende varias especies de plantas que en su mayoría son empeladas como especias en la gastronomía, las sustancias volátiles y aromáticas presentes en el orégano son utilizadas en fármacos, cosméticos y licores. ^(16,17)

En estudios sobre la actividad antimicrobiana de los extractos de orégano, se ha encontrado que el género *Origanum*, posee efecto antimicrobiano frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, y presentan también capacidad antifúngica. Se sabe que *Streptococcus mutans* es la especie bacteriana más importante que participa en el desarrollo inicial de la caries y pertenece al grupo Gram positivo. Además, a mayor grado de infección por *Streptococcus mutans* en saliva, existe mayor riesgo a padecer de caries. ⁽¹⁷⁾

En la composición química del orégano, y sus aceites esenciales se han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano, también se han encontrado ácidos coumérico, ferúlico, caféico, r-hidroxibenzóico y vainillínico. ⁽¹⁶⁾

2.2.2 Aceite de orégano y su empleo farmacéutico

El orégano posee un aceite esencial que contiene dos fenoles que son el carvacrol (0,1-30 %) y el timol (50 %), flavoides derivados del apigenol, luteolol, kenferol, diosmetol. Además, contiene otros compuestos como estragol, eugenol, taninos, entre otros. ⁽¹⁸⁾ El *Origanum Vulgare* posee alto contenido en compuestos polifenólicos ⁽¹⁹⁾, y la mayor parte de las propiedades curativas se atribuyen al aceite esencial y flavonoides. ⁽²⁰⁾

El mecanismo de acción: El timol y el carvacrol son los componentes antimicrobianos de mayor importancia presentes en los aceites esenciales, estos compuestos desintegran la membrana externa de las bacterias Gram negativas, liberando parte del lipopolisacárido y, por lo tanto, aumenta la permeabilidad del ATP (trifosfato de adenosina) en la membrana citoplasmática produciendo poros en está, y lisando a la bacteria. ⁽²¹⁾

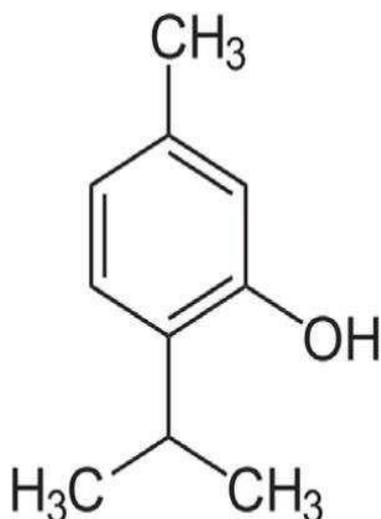


Figura 2. Estructura química del Timol.

Fuente: www.researchgate.net

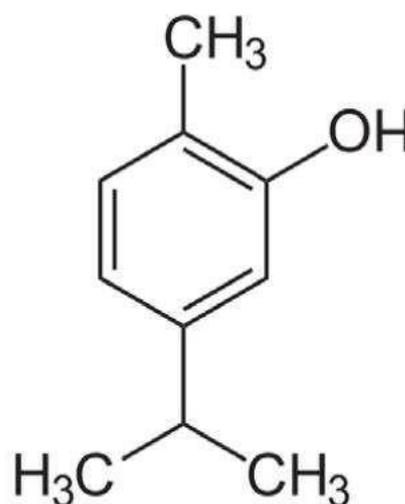


Figura 3. Estructura química del Carvacrol

Fuente: www.researchgate.net

El timol (2-isopropil-5-metilfenol) (figura 2) se encuentra presente en la naturaleza como una sustancia cristalina, incolora, con olor característico en los aceites esenciales del orégano y del tomillo. ⁽¹⁸⁾

El timol pertenece al grupo de los terpenos, también cuenta con isómero que es el carvacrol, el timol se caracteriza por su poder desinfectante y fungicida. Está presente en enjuagues bucales y pastas de dientes por su sabor agradable. ⁽¹⁸⁾

El carvacrol (3-isopropil-6-metilfenol) (figura 3) también llamado cymophenol, $C_6H_3CH_3(OH)$ (C_3H_7), es un fenol de monoterpénico. Tiene un gusto parecido a una pizza de un olor característico acre. La especie *Origanum majorana* y *Dittany de Creta* es rica en carvacrol. ⁽¹⁸⁾

El aceite esencial de orégano en la industria farmacéutica se emplea como antiséptica, expectorante, antibacteriano, antiviral y antifúngico, antiespasmódico, antiinflamatorio, diurético, sedante, antirreumático, contra dolores musculares, otalgias y odontalgias, entre otros. ⁽¹⁷⁾

3. FORMAS FARMACÉUTICAS SEMISÓLIDAS (GELES)

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos define los geles como formas farmacéuticas semisólidas formadas por líquidos gelificados con ayuda de un agente gelificante. ⁽²²⁾ Los geles pueden ser empleados para administrar fármacos de forma tópica o en las cavidades corporales.

Desde el punto de vista físico y químico los geles se definen como sistemas dispersos formados por una fase sólida y una líquida. Un gel polar típico consta de un polímero natural y un líquido hidrofílico. Esta peculiar estructura es comparable a una esponja (sólido) empapada en agua (líquido). Dentro de los materiales semi sintéticos, los más utilizados son los derivados de la celulosa, como metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa y carboximetilcelulosa, o sintéticos, como el grupo denominado carbopol. ⁽²³⁾

Las ventajas que presenta la utilización de geles frente a otras formas de aplicación tópica son reducidas, aunque son tolerados y fácilmente lavables produciendo por lo general sensación de frescura. Por el contrario, presentan inconvenientes tales como incompatibilidades del gelificante con numerosos principios activos, algunos excipientes, y tendencia a la desecación, por ello suelen añadirse humectantes (propilenglicol, glicerina o sorbitol líquido). ⁽²⁴⁾

En principio la elaboración de geles no presenta dificultad técnica, sin embargo, puede incorporarse aire con facilidad y esto genera que se pierda la transparencia de los geles. Esta pérdida de transparencia también puede producirse al añadir determinados principios activos a determinados geles. Su preparación requiere tiempo para la imbibición del polímero gelificante, aunque este tiempo es breve si se trabaja con un agitador de alto corte, sin embargo, se

debe considerar que no todos los agentes gelificantes pueden resistir este último instrumento volviéndose más acuosos y perdiendo cierta viscosidad. ⁽²⁴⁾

3.1 Características farmacotécnicas

Los geles son semisólidos, y bajo esfuerzos presentan propiedades tanto de líquidos como de sólidos. Se pueden clasificar como materiales viscoelásticos. Bajo la aplicación de un esfuerzo cortante, los líquidos fluyen, mientras que los sólidos elásticos se deforman.

Estos se clasifican en tres grupos, dependiendo de sus propiedades geológicas, en: ^(24,25)

- Redes aglomeradas o geles fluidos: Se comportan como soluciones diluidas por debajo de su concentración crítica de gelación. Presentan baja resistencia a la deformación.
- Geles fuertes o sólidos: Presentan perfiles de esfuerzo-deformación que incluyen puntos de ruptura. Ejemplos de éstos son los sticks desodorantes y las colonias sólidas.
- Geles débiles o semisólidos: Son también redes aglomeradas, pero tienen interacciones moleculares específicas que aumentan su firmeza. Sus propiedades son intermedias entre las de los geles fuertes y las redes aglomeradas.

3.2 Estudios de preformulación

La fórmula debe ser estable, los componentes deben ser seguros, inertes, no reaccionar entre ellos, y ser compatibles con el principio activo. La consistencia debe ser tal, que permita una aplicación fácil, que no genere manchas, ni irrite.

Los componentes para la elaboración de un gel son: ^(24,26)

- Agente gelificante: Pueden emplearse gomas o resinas naturales, o polímeros sintéticos. Algunos ejemplos son la goma de tragacanto, la goma arábiga y los carbopoles.
- Disolvente: Como el agua y las mezclas hidroalcohólicas, aunque también pueden emplearse algunos aceites.
- Humectante: Agentes humectantes como el propilenglicol, la glicerina y el sorbitol.
- Conservadores:
 - a) Agentes antimicrobianos: metil y propil parabenos, el ácido benzoico y su sal sódica.
 - b) Antioxidantes: metabisulfito de sodio, el tiosulfato de sodio y el ácido ascórbico.
 - c) Agentes quelantes: Sustancias que forman complejos estables con metales. Los más utilizados son el ácido cítrico y el ácido etilendiaminotetraacético.
- Colorantes: Para hacer al producto más atractivo visualmente y/o facilitar su identificación.
- Agentes buffer: Permita a la solución resistir variaciones o cambios en su pH. Preferentemente deben emplearse a una concentración mínima. Los buffers empleados son los citratos, los acetatos y los fosfatos.
- Agente ajustador del pH: Los valores de pH para un producto de administración tópica, es entre 5.5 y 7. La viscosidad producida por algunos agentes gelificantes, requiere de ciertos valores de pH para alcanzar valores óptimos. Algunos ejemplos son la trietanolamina, el hidróxido de sodio o potasio, amoníaco, bórax, ácido cítrico, carbonato de sodio, fosfatos, etc.

3.3 Metodología de fabricación

Los geles pueden prepararse por un proceso de fusión, o mediante un proceso de gelificación. ⁽²⁴⁾ El proceso de gelificación se puede dar por distintos métodos:

- Por enfriamiento: Los polímeros solubles presentan una mayor solubilidad en agua fría que en agua caliente, y tienden a formar geles tras el enfriamiento.
- Por evaporación o deshidratación: Al reducirse la cantidad de líquido que rodea a las cadenas poliméricas, éste se vuelve insuficiente para mantenerlas completamente alejadas entre sí, por lo cual se gelifica.
- Por electrólitos o sales: El agregado de grandes cantidades de electrólitos, provoca la coagulación o precipitación de las sustancias dispersadas, debido a que las sales toman parte del agua para hidratarse, provocando por lo tanto la deshidratación de las partículas dispersas.
- Polímeros que dan lugar a un gel dependiendo del pH del medio, como por ejemplo el carbopol.

El mecanismo de formación del gel: La dispersión del polímero en agua presenta un pH ácido. A valores bajos de pH se disocia una pequeña porción de los grupos carboxílicos del polímero, formando una espiral flexible. La adición de una base produce la ionización de los grupos carboxílicos, creando repulsión electrostática entre las regiones cargadas, expandiéndose la molécula, haciendo más rígido el sistema, gelificándolo al pasar de una estructura espiral, a una estructura extendida. ⁽²³⁾

Debido a la naturaleza de los carbómeros, se requiere de un mezclado inicial rápido para uniformizar la dispersión, seguida de un mezclado suave en un mezclador planetario durante la neutralización (proceso de gelatinización) del gel. La entrada del aire durante el proceso de neutralización, puede ser minimizada por la adición de los líquidos bajo la superficie, mezclando suavemente. Además, se mezcla al vacío para retirar el aire atrapado durante el proceso de dispersión dentro de la fabricación. La minimización del atrapamiento de aire es necesaria desde el punto de vista estético, y más importante, para el aspecto de control en el peso del llenado durante el acondicionamiento. ⁽²⁴⁾

3.4 Evaluación de la forma farmacéutica

Las formas farmacéuticas de administración tópica, deben de cumplir con los estándares generales de estabilidad física y química, así como estar libres de contaminantes, esto durante todo el proceso (formulación, manufacturación y acondicionamiento). ⁽²⁷⁾

Las pruebas para semisólidos que se evalúan, de acuerdo con la NOM-073-SSA1-2015 son: ⁽²⁷⁾

- Apariencia/ Descripción/Aspecto (incluyendo consistencia).
- Color.
- Olor (Cuando aplique).
- Valoración.
- pH (Cuando aplique).
- Pérdida de peso (Cuando el envase primario sea semipermeable).
- Viscosidad.
- Límite Microbiano (inicial y final).
- Identidad (inicial y final) esto solo para remedios herbolarios.

Justificación

Los productos de origen fitoterapéutico, son de gran utilidad, ya que parten de una materia prima más económica y natural, y además existe un gran número de estas que poseen alguna actividad frente a microorganismos, es por ello que se utilizan estas propuestas para el tratamiento de enfermedades bacterianas. La papaína está presente en las hojas y fruto de la papaya, es una enzima proteolítica que facilita la digestión de la carne y todas sus proteínas, es de gran utilidad en la prevención de los problemas hepatobiliares, mejora el ritmo cardiaco, posee efecto antiinflamatorio, además es antibacteriana y antifúngica. ⁽¹³⁾ Mientras que el orégano es una planta que tiene una variedad de aplicaciones en diversos ámbitos, se ha estudiado su aceite extraído de sus hojas por tener efectos antimicrobianos, en particular este efecto se le atribuye a los compuestos

carvacrol y timol los mismos que actúan en la inhibición de microorganismos patógenos presentes en el aceite de orégano. ⁽¹⁸⁾

Se ha encontrado en diferentes artículos y revistas científicos que de manera independiente tanto la papaína como el aceite de orégano presenta actividad antimicrobiana frente a *Streptococcus Mutans* y *Staphylococcus aureus*. Si se logra demostrar que en conjunto producen una mayor inhibición de estas bacterias, se podría diseñar una forma farmacéutica semisólida de administración bucal, para emplear como tratamiento alternativo para estas afecciones.

Objetivo General

Proponer el diseño de una forma farmacéutica semisólida en gel conteniendo extracto de papaína y aceite de orégano para el tratamiento antimicrobiano de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*.

Objetivos Específicos

1. Realizar una revisión bibliográfica sobre la actividad antimicrobiana de la papaína y del aceite de orégano.
2. Proponer el diseño de un método para la extracción del aceite de orégano, a partir de la planta *Origanum Vulgare*.
3. Describir el método para determinar la actividad antimicrobiana de diferentes concentraciones de aceite de orégano y papaína comercial sobre el crecimiento de las cepas de *S. Mutans* y *S. aureus*, por el método de macrodilución en caldo.
4. Describir la técnica para la determinación del efecto mínimo inhibitorio y mínimo bactericida de papaína comercial y aceite de orégano, por medio de caldo y agares de BHI.
5. Proponer el diseño de la forma farmacéutica semisólida conteniendo papaína y aceite de orégano.

OBJETIVO GENERAL	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS METODOLÓGICOS
<p>Proponer el diseño de una forma farmacéutica semisólida en gel conteniendo extracto de papaína y aceite de orégano para el tratamiento antimicrobiano de <i>Streptococcus Mutans</i> y <i>Staphylococcus Aureus</i>.</p>	<p>1. Realizar una revisión bibliográfica sobre la actividad antimicrobiana de la papaína y del aceite de orégano.</p> <p>2. Proponer el diseño de un método para la extracción del aceite de orégano, a partir de la planta <i>Origanum Vulgare</i>.</p> <p>3. Describir el método para determinar la actividad antimicrobiana de diferentes concentraciones de aceite de orégano y papaína comercial sobre el crecimiento de las cepas de <i>S. Mutans</i> y <i>S. Aureus</i>, por el método de macrodilución en caldo.</p> <p>4. Describir la técnica para la determinación del efecto mínimo inhibitorio y mínimo bactericida de papaína comercial y aceite de orégano, por medio de caldo y agares de BHI.</p> <p>5. Proponer el diseño de la forma farmacéutica semisólida conteniendo papaína y aceite de orégano.</p>	<p>1.1 Revisar bibliografía sobre la actividad antimicrobiana de la papaína y del aceite de orégano.</p> <p>2.1 Obtener y extraer aceite de orégano.</p> <p>2.2 Determinar rendimiento.</p> <p>3.1 Preparar concentraciones de aceite de orégano y papaína comercial.</p> <p>3.2 Activar cepas de <i>S. Mutans</i> y <i>S. Aureus</i>.</p> <p>3.3 Preparar suspensión, en escalada de turbidez de Mc Farland al 0.5</p> <p>3.4 Preparación de diluciones doble seriadas, por el método de macrodilución en caldo</p> <p>4.1 Determinar efecto mínimo inhibitorio y efecto mínimo bactericida.</p> <p>5.1 Estudio de preformulación.</p> <p>5.2 Diagrama del proceso propuesto para la elaboración del gel tópico bucal.</p> <p>5.3 Control de calidad del gel tópico bucal.</p>

Metodología

1. Realizar una revisión bibliográfica sobre la actividad antimicrobiana de la papaína y del aceite de orégano.

A partir de los recursos electrónicos tomados de PubMed, Springer Link, Elsevier y Nature, publicados entre los años 2011 a 2021, se realizó una revisión de la literatura sobre la actividad antimicrobiana de la papaína y del aceite de orégano. En base a eso, se determinó que método será el idóneo para obtener el aceite de orégano, las propiedades con las que debe cumplir la papaína comercial, la técnica para la determinación del efecto mínimo inhibitorio y el efecto mínimo bactericida, y finalmente la propuesta del diseño de la forma farmacéutica semisólida de administración bucal.

2. Proponer el diseño de un método para la extracción del aceite de orégano, a partir de la planta *Origanum Vulgare*.

El método para la extracción del aceite que se propone es la técnica de destilación por arrastre de vapor, el cual consiste en elevar la temperatura de vapor (100 °C) por un determinado tiempo. Debido a esto el tejido vegetal se rompe liberado el aceite esencial de orégano luego se enfría para que el vapor se reduzca a líquido. Por medio del calor las sustancias volátiles llamadas esencias se separan ⁽²⁸⁾. a continuación, se describen los pasos del proceso.

2.1 Obtener y extraer aceite de orégano.

El aceite se obtendrá a partir de las hojas y flores de la planta *Origanum Vulgare* del proveedor ALCO/Alimentos Compeán (Anexo 1). El proceso de extracción se realizará por la técnica de destilación por arrastre de vapor de agua, se utilizará aproximadamente 7.5 kg de planta previamente triturado, en 3 litros de agua destilada ⁽¹⁶⁾.

1. Se monta el equipo de destilación como se aprecia en la figura 3.

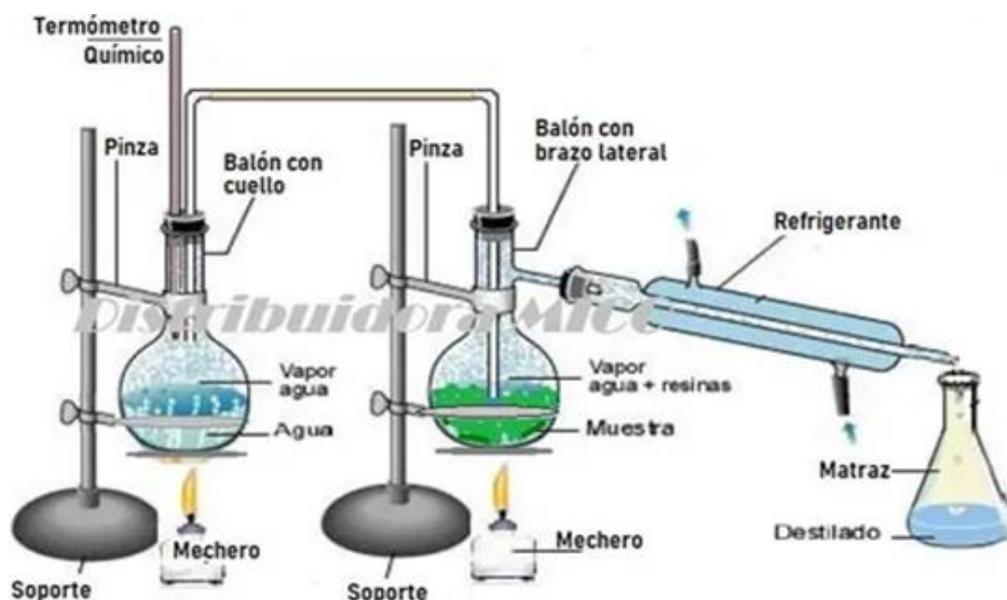


Figura 3. Destilación por arrastre de vapor.

Fuente: Distribuidora Mico

2. El aceite se separará de la capa acuosa, utilizando un embudo de separación y acetato de etilo, y se colectara en un vaso de precipitados, y al final se le adicionará sulfato de sodio anhidro para eliminar las cantidades de agua que queden. ⁽²⁸⁾
3. Se pesará la cantidad de aceite obtenido, esto para posteriormente determinar el rendimiento (punto 2.2).
4. Se almacenará en un frasco color ámbar que esté debidamente rotulado y etiquetado, dentro de un refrigerador a una temperatura de 4°C hasta su utilización.

2.2 Determinar porcentaje de rendimiento

Se determinará el rendimiento del aceite de orégano, esto utilizando la siguiente ecuación: ⁽²⁹⁾

$$\frac{\text{Peso obtenido del aceite esencial (g)}}{\text{Peso del material vegetal (g)}} \times 100$$

3. Describir el método para determinar la actividad antimicrobiana de diferentes concentraciones de aceite de orégano y papaína comercial sobre el crecimiento de las cepas de *S. Mutans* y *S. Aureus*, por el método de macrodilución en caldo.

Se propone emplear para determinar la actividad antimicrobiana el método de macrodilución en caldo. La característica del método de dilución en caldo es que el crecimiento se realiza en un medio líquido, en el que se ha realizado una dilución conocida del antimicrobiano a utilizar, en progresión aritmética, habitualmente en base dos ⁽³⁰⁾.

Procedimiento:

- a) Preparación del agente antimicrobiano: Se recomienda preparar una solución inicial diez veces superior a la primera que se desee estudiar frente al microorganismo y usarlo en el día o conservarlo congelado. Se obtienen diferentes concentraciones del agente antimicrobiano realizando sucesivas diluciones con la adición del medio de cultivo. A la hora de preparar las diluciones hay que contemplar que éstas se diluirán a su vez tras la adición de volumen con el inóculo.
- b) Preparación del medio de cultivo: El medio de cultivo será líquido, generalmente caldo Mueller Hinton (MH). Es importante ajustar pH (7.2-7.4) y la concentración de cationes divalentes (Ca^{2+} , 20-25 mg/L y Mg^{2+} , 10-12.5 mg/L). Esterilizar mediante autoclave.
- c) Preparación del inóculo: Partiendo de una solución del microorganismo 0.5 McFarland, se realizará una dilución con caldo MH o suero salino 1:100, de este modo se obtiene 10⁶ UFC/ml. Se inocula cada tubo de ensayo para que la concentración final de microorganismo sea de 3.3×10^5 UFC/ml. El inóculo se empleará dentro de los 30 minutos posteriores a su preparación.
- d) Condiciones de incubación: variables según el microorganismo de estudio ⁽³⁰⁾.

3.1 Preparar concentraciones de aceite de orégano y papaína comercial

Se utilizará Tween 80 como solvente y las concentraciones del aceite de orégano se estableció en base a los resultados obtenidos por diferentes autores, donde

reportan una actividad antimicrobiana en concentraciones del 20%, por ellos se propone hacer de 15%, 20% y 25% que se muestran en la Tabla 1, se calcularon mediante el método de dilución para un volumen de 10 ml.

Se empleará de igual modo papaína comercial pura en polvo de Merck Millipore (Anexo 2), de esta se utilizará 1 gr de papaína disuelta en 10 ml de Tween 80 (v/v).

Tabla 1. Concentraciones del aceite esencial de orégano <i>Origanum Vulgare</i>			
SUSTANCIAS	CONCENTRACIONES		
	15%	20%	25%
Aceite de orégano	1.5 ml	2 ml	2.5 ml
Tween 80	8.5 ml	8 ml	7.5 ml

3.2 Activar cepas de *S. Mutans* y *S. Aureus*.

Para la determinación de actividad antimicrobiana se utilizarán las cepas *S. Mutans* ATCC 25175 y *S. Aureus* ATCC 25923, de American Type Culture Collectin. Ambas por separado se rehidratarán, e incubarán en cajas de agar como indique el proveedor (Anexo 3 para *S. Mutans* y Anexo 4 para *S. Aureus*), y se dejarán en estufa a 37 °C durante 24 horas.

3.3 Preparar suspensión, en escalada de turbidez de Mc Farland a 0.5

Pasadas las 24 horas, del punto anterior (3.2) se tomarán de las cajas de agar con un asa bacteriológica, de tres a cinco colonias bien aisladas, y se suspenderán en tubos de ensaye que contendrán entre 4-5ml de caldo infusión cerebro corazón (BHI), el caldo se incubará a 35 °C y este tendrá que presentar una turbidez (usualmente en un lapso de entre 4-6 horas) equivalente a la suspensión de referencia de Mc Farland a 0.5.

La turbidez del cultivo en el caldo se ajustará con solución salina o caldo estéril, para llevar a cabo este paso, se deberá usar un espectrofotómetro ⁽³¹⁾.

3.4 Preparación de diluciones doble seriadas, por el método de macrodilución en caldo

Se utilizarán 8 tubos de ensaye de 13 x100 milímetros con tapón de rosca por cada bacteria a analizar, tanto con las concentraciones del aceite de orégano como con papaína comercial. Se prepara caldo de Mueller Hinton (MH).

Tubo 1(Puro 100%): 1 ml de la solución problema (papaína o aceite de orégano).

Del tubo 2 al 7 contendrán caldo de MH, posteriormente las diluciones seriadas serán así:

Tubo 2: 1 ml de caldo MH + 1 ml solución problema, se agitará. ($\frac{1}{2}$)

Tubo 3: 1 ml de caldo MH + 1 ml del Tubo 2, se agitará. ($\frac{1}{4}$)

Tubo 4: 1 ml de caldo MH + 1 ml del Tubo 2, se agitará. ($\frac{1}{8}$)

Tubo 5: 1 ml de caldo MH + 1 ml del Tubo 2, se agitará. ($\frac{1}{16}$)

Tubo 6: 1 ml de caldo MH + 1 ml del Tubo 2, se agitará. ($\frac{1}{32}$)

Tubo 7 (Control +): 1 ml de caldo MH

Tubo 8 (Control -): únicamente 1 ml de la solución problema

A excepción del tubo 8, todos los demás tubos se inocularán con 100 μ l de la suspensión bacteriana 0.5 del patrón Mc Farland; Se agitarán bien todos los tubos y se llevarán a estufa a 37 °C por 24 horas. Concluido el tiempo indicado, observaremos la presencia de turbidez ⁽²⁹⁾.

4. Describir la técnica para la determinación del efecto mínimo inhibitorio y mínimo bactericida de papaína comercial y aceite de orégano, por medio de caldo y agares de BHI.

En la determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) definida como aquella concentración capaz de disminuir el crecimiento en un 90% ⁽²⁹⁾. Se observará mediante el método de dilución en caldo, como se aprecia en la figura 4 en los tubos de ensaye; donde en este ejemplo no hay desarrollo de microorganismos (ausencia de turbidez) hasta llegar a una dilución a partir de cual comienza a haber un aumento de turbidez (desarrollo bacteriano), en este caso el tubo que no presento turbidez es el de 4 μ g /ml, siendo esta la concentración mínima inhibitoria.

La concentración mínima bacteriana (CMB) se define como la concentración más baja del extracto que inhibió completamente el crecimiento microbiano ⁽²⁹⁾. En el ejemplo de la figura 4, se aprecia que de los tubos de ensaye que no presentaron turbidez (a partir de los la concentración 4 $\mu\text{g/ml}$ hasta 64 $\mu\text{g/ml}$) se inoculan en la placa de agar, pasadas las 24 horas en las condiciones adecuadas, se puede apreciar que no hubo crecimiento en la concentración de 32 $\mu\text{g/ml}$ siendo la concentración mínima bactericida.

Determinación de CMI: Dilución en caldo

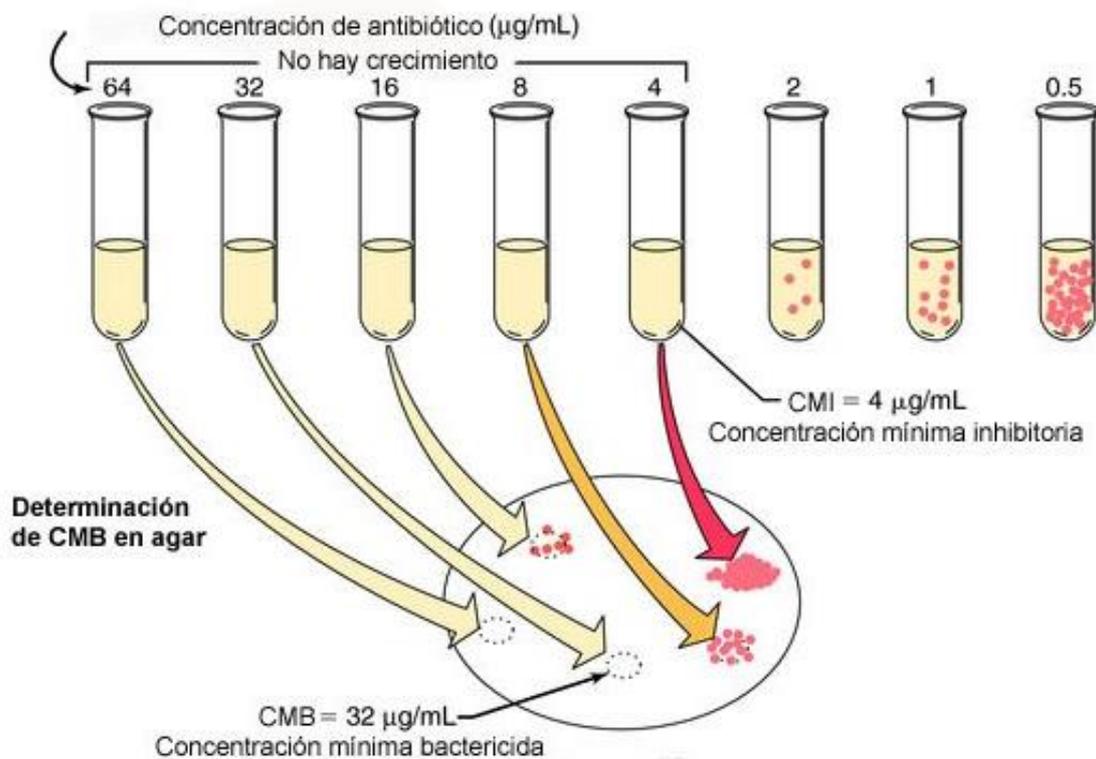


Figura 4. Determinación del efecto mínimo inhibitorio (CMI) y Determinación del efecto mínimo bactericida (CMB).

Fuente: www.microbioblog.es

4.1 Determinar efecto mínimo Inhibitorio y efecto mínimo bactericida

Se determinará el efecto mínimo inhibitorio observando la turbidez en los tubos del paso 3.4 pasadas las 24 horas, como resultado en el tubo de ensaye donde no se presente la turbidez esa será la CMI.

Para determinar CMB, se preparará tantas placas con agar de BHI, y de los tubos anteriores con las disoluciones que presenten turbidez, tomaremos una gota y los verteremos en las placas, al igual con los tubos de control positivo y negativo. Se llevarán a estufa 24 horas a 37 °C. Pasado el tiempo para su interpretación observaremos en los agares la cantidad de presencia de colonias, donde no haya crecimiento de estas, ese será la CMB.

5. Proponer el diseño de la forma farmacéutica semisólida conteniendo papaína y aceite de orégano.

La forma farmacéutica semisólida que se propone diseñar es un gel tópico bucal, la mucosa oral presenta una estructura anatómica y funcional muy diferente a la de la piel. Sus condiciones especiales de permeabilidad, humedad y motilidad dificultan la aplicación de tratamientos tópicos, por ello se precisa usar excipientes adecuados para ser aplicados en esta región.

5.1 Estudio de preformulación.

Se describe a la preformulación como una fase del proceso de desarrollo del medicamento en la que se caracterizan las propiedades físicas, químicas y mecánicas que permitan diseñar las formas farmacéuticas que le confieran mayor estabilidad, seguridad y eficacia. Para la preformulación se llevarán a cabo pruebas de caracterización, de estabilidad y de compatibilidad ⁽²⁷⁾.

En las pruebas de caracterización tanto para la papaína como para el aceite de orégano, se realizarían análisis organolépticos, cromatografía en capa fina, espectrofotometría infrarrojo y UV, densidad relativa, pH, miscibilidad y valoración. En las pruebas de compatibilidad se colocará el aceite de orégano y

la papaína en proporciones adecuadas con cada uno de los excipientes de la formulación, en viales de vidrio transparente ⁽³²⁾.

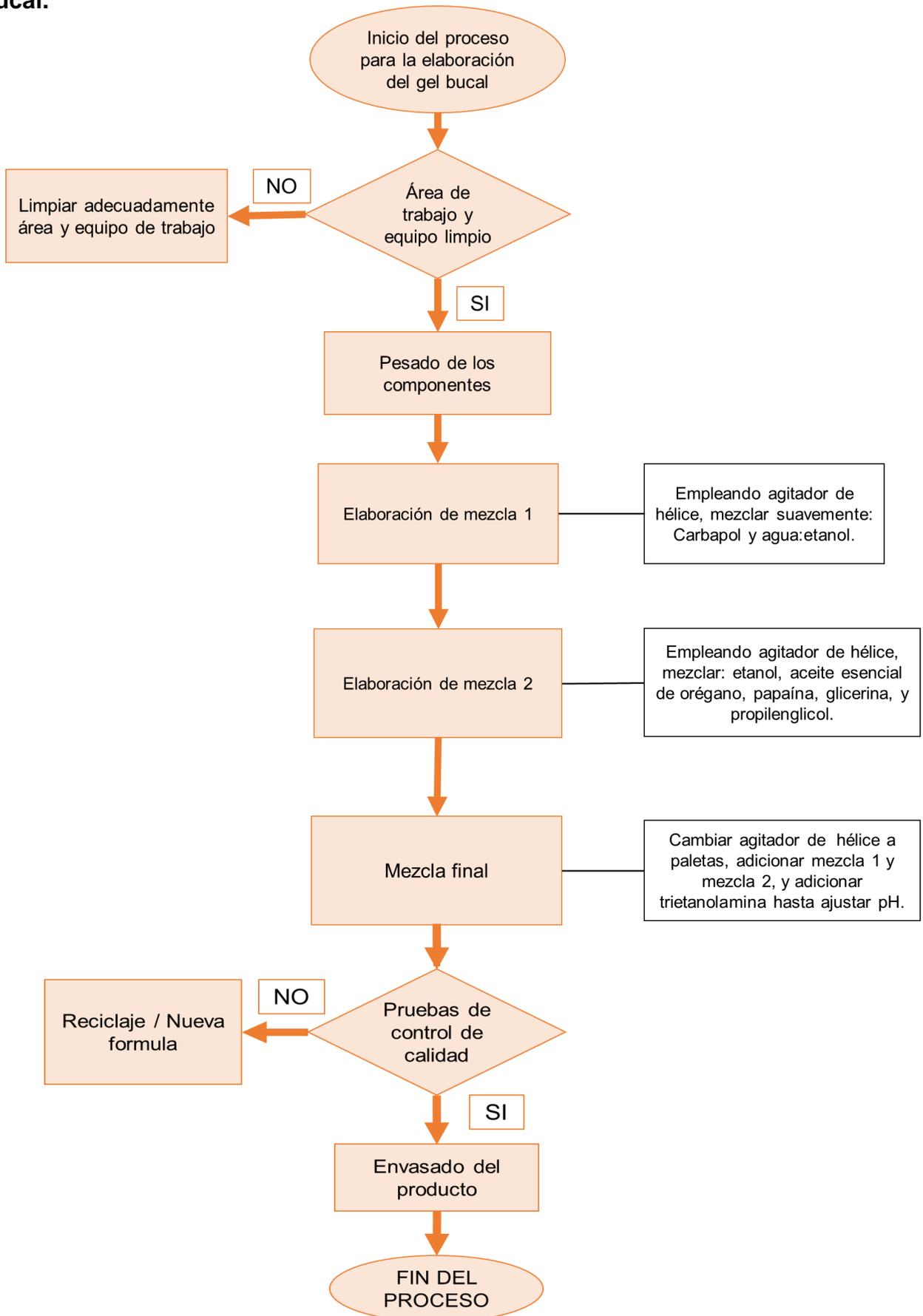
Los componentes para la elaboración de un gel son: ^(24,26)

- Agente gelificante.
- Disolvente.
- Humectante.
- Conservadores.
- Agentes buffer.
- Agente ajustador del pH.
- Colorantes y Saborizantes esto para hacer al producto más atractivo y/o facilitar su identificación.

Los componentes (Tabla 2) que se proponen utilizar son de uso generalizado para esta forma farmacéutica. Es importante mencionar que, al término de la elaboración del gel, deben evitarse la formación de burbujas y el gel se deberá preservar de la luz debido a la fotosensibilidad de la papaína ⁽¹⁵⁾.

Tabla 2. Propuesta de componentes del gel tópico bucal	
Principio Activo	Aceite esencial de orégano y papaína comercial
Agente Gelificante	Carbopol
Disolvente	Etanol
Humectante	Glicerina
Conservadores	Propilenglicol
Agente buffer	Citratos Acetatos Fosfatos
Agente ajustador de pH (pH entre 5 y 7)	Trietanolamina

5.2 Diagrama del proceso propuesto para la elaboración del gel tópico bucal.



5.3 Control de calidad del gel tópico bucal.

Las pruebas para la formulación final del gel bucal que se evaluarán, conforme a los Métodos Generales de Análisis de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos décima edición y de acuerdo a la NOM-073-SSA1-2015 son: ^(22,27)

- Apariencia/ Descripción/Aspecto (incluyendo consistencia).
- Color.
- Olor.
- Valoración.
- pH (*MGA 0701*).
- Viscosidad (*MGA 0951*).
- Límite Microbiano (inicial y final) (*MGA 0571*).

Al concluir con las pruebas de control de calidad, se deberá hacer la elección adecuada del material de envase primario, donde será acondicionado el producto final.

Objetivos y metas alcanzados

Todo objetivo está compuesto por una serie de metas, estas son como los procesos que se deben seguir y terminar para poder llegar al objetivo como tal. Las metas que se plantearon y cumplieron para cada objetivo fueron las siguientes:

Objetivo 1. Realizar una revisión bibliográfica sobre la actividad antimicrobiana de la papaína y del aceite de orégano.

Meta 1- Se busco y recabo información a partir de los recursos electrónicos publicados entre los años 2011 a 2021, sobre los métodos de extracción del aceite de orégano, los métodos para determinar la actividad antimicrobiana de la papaína y el aceite de orégano, los estudios de preformulación y formas farmacéuticas semisólidas en gel, las caracterizas farmacotécnicas y farmacopeicas, así como los controles de calidad.

Objetivo 2. Proponer el diseño de un método para la extracción del aceite de orégano, a partir de la planta *Origanum Vulgare*.

Meta 1- Se planteo utilizar la técnica de destilación por arrastre de vapor y se detalló en que consiste esta técnica.

Meta 2- Se mostro la manera de montar el equipo por medio de una figura (figura 3), y de manera descriptiva como se llevará la obtención del aceite a partir de la planta *Origanum Vulgare*.

Meta 3- Se busco proveedor de la planta *Origanum Vulgare* en caso de realizarse de manera experimental.

Objetivo 3. Describir el método para determinar la actividad antimicrobiana de diferentes concentraciones de aceite de orégano y papaína comercial sobre el crecimiento de las cepas de *S. Mutans* y *S. Aureus*, por el método de macrodilución en caldo.

Meta 1- Se propuso el método de macrodilución en caldo para determinar la actividad antimicrobiana, detallando en que consiste.

Meta 2- Se describió el procedimiento del método, abarcando la propuesta y preparación de las concentraciones del aceite esencial (Tabla 1), la preparación de la suspensión de turbidez en escala Mc Farland al 0.5, y la preparación de diluciones doble seriadas.

Meta 3- Se busco proveedor de papaína comercial en polvo, así como de las cepas *S. Mutans* y *S. Aureus*. para poder llevar acabo la activación de estas en caso de realizarse de manera experimental.

Objetivo 4. Describir la técnica para la determinación del efecto mínimo inhibitorio y mínimo bactericida de papaína comercial y aceite de orégano, por medio de caldo y agares de BHI.

Meta 1- Se define que es el efecto mínimo inhibitorio y el efecto mínimo bactericida, utilizando una figura como ejemplo (figura 4).

Meta 2- Se mencionan los pasos a seguir y los materiales a utilizar para la determinación del CMI y CMB.

Objetivo 5. Proponer el diseño de la forma farmacéutica semisólida conteniendo papaína y aceite de orégano.

Meta 1- Se describió que es un estudio de preformulación y las pruebas que se deben de llevar: de caracterización, de estabilidad y de compatibilidad antes de la elaboración del gel.

Meta 2- Se propuso que componentes se podrían emplear para diseñar el gel tópico bucal (Tabla 2).

Meta 3- Se elaboro un diagrama de procesos para representar los procedimientos que se deben llevar para la elaboración del gel.

Meta 4- Se enlistaron las pruebas que se deben realizar para el control de calidad del gel tópico bucal, esto conforme a los Métodos Generales de Análisis de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos décima edición y de acuerdo a la NOM-073-SSA1-2015.

Resultados y Conclusiones

La finalidad de este proyecto fue la propuesta para el diseño de una forma farmacéutica semisólida en gel conteniendo extracto de papaína y aceite de orégano para el tratamiento antimicrobiano de *Streptococcus Mutans* y *Staphylococcus Aureus*, ya que en base a toda la información recabada por diferentes autores sobre los productos de origen fitoterapéutico, en este caso del aceite de orégano de la planta *Origanum Vulgare* y la papaína , podrían considerarse como una alternativa en el tratamiento de enfermedades bucales sobre todo porque ambas presentan actividad antimicrobiana frente a la bacterias *Streptococcus Mutans* y *Staphylococcus Aureus* (bacterias formadoras de gingivitis y periodontitis), y podría emplearse por periodos largos de tiempo, aunque se requiere completar con estudios de manera experimental para evaluar su eficacia y posibles efectos adversos, por ello se pretende que sirva también como guía para poder llevarlo a cabo en un laboratorio.

Para lograrse el objetivo principal o general, se cumplieron con los objetivos específicos. El primer objetivo específico se llevó acabo de manera sistémica, realizando una revisión bibliográfica sobre la actividad antimicrobiana de la

papaína y del aceite de orégano, en la cual se recabo la suficiente información de fuentes electrónicas tomas de PubMed, Springer Link, Elsevier, Nature, entre otras; También se investigó sobre los métodos de extracción del aceite de orégano, los métodos para determinar la actividad antimicrobiana de la papaína y el aceite de orégano, los estudios de preformulación y formas farmacéuticas semisólidas en gel, las caracterizas farmacotécnicas y farmacopeicas, así como los controles de calidad.

En el segundo objetivo se propuso el método de extracción por la técnica de destilación por arrastre de vapor, ya que es más sencillo, eficiente y menos costoso, además de que se obtiene un aceite esencial de alta calidad, a diferencia de otros métodos donde se utiliza solventes orgánicos, donde después es difícil de eliminar y más costosos ⁽²⁸⁾.

Para determinar la actividad antimicrobiana del tercer objetivo, se propuso el método por macrodilución en caldo ya que este se encuentra bien estandarizado ⁽³⁰⁾ y además con este mismo método se determina la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida cumpliendo con el cuarto objetivo ⁽²⁹⁾; para las concentraciones del aceite esencial de orégano varios autores reportan la actividad antimicrobiana en concentraciones del 20 % ^(16, 17), por ello se propuso emplear tres: 15%, 20% y 25%, y en el caso de la papaína se reportan en 10% por eso solo se propuso esa concentración ^(12, 13). No hay mayor complejidad, si se realizan y se siguen adecuadamente los procedimientos como se describen en el método de macrodilución en caldo, se puede llevar también una buena determinación del efecto mínimo inhibitorio y el efecto mínimo bactericida.

Finalmente, el último objetivo fue el diseño de la forma farmacéutica, en ese caso se propuso idear un gel tópico bucal, ya que es de fácil aplicación, puede ser de uso diario, y sobre todo ataca directamente a la patología de la cavidad bucal, que es lo que se desea eliminar las bacterias causantes de la placa y la caries. Se propuso utilizar ciertos compuestos o excipientes, pero estos son de uso generalizado para esta forma farmacéutica, en la parte de antecedentes se hace mención a todos los componentes que se podrían emplear, pero por ello es

importante realizar primero las pruebas de preformulación para conocer la compatibilidad de los excipientes, y no tener problemas más adelante ^(32, 24,26). Se elaboro un diagrama de procesos para representar los procedimientos que se deben llevar para la elaboración del gel, es importante que, durante y al término de la elaboración del gel, deberán evitarse la formación de burbujas y se deberá preservar de la luz debido a la fotosensibilidad de la papaína ⁽¹⁵⁾. Las pruebas de control de calidad deberán realizarse conforme a los Métodos Generales de Análisis de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos décima edición y de acuerdo a la NOM-073-SSA1-2015.

Recomendaciones

- ✓ Poder llevar ese proyecto de manera experimental.
- ✓ De ser posible experimentar con la papaína extraída directamente del fruto, y evaluar si hay diferencias significativas con la papaína comercial.
- ✓ Realizar cromatografía de gases con detector de masa (GC/MS) para conocer la composición química del aceite esencial de orégano.
- ✓ Realizar los estudios de preformulación y formulación para el gel tópico bucal.
- ✓ Realizar pruebas clínicas en pacientes que presentan patologías periodontales específicamente gingivitis y periodontitis.

Referencias Bibliográficas

1. Lezana, F. Perfil Epidemiológico de la salud Bucal en México 2011, México Distrito Federal. SINAVE/DGE/SALUD. 2011; 17-21.
2. Organización Mundial de la Salud. (20 de agosto de 2021). Reporte sobre Salud bucodental. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/oral-health>.
3. Bonet, Garrote. (enero-febrero 2014). Enfermedades periodontales. *Farmacia Abierta*, Vol. 28 Núm. 1, 23-27.
4. Asamblea General de las Naciones Unidas. Declaración política de la Reunión de Alto Nivel de la Asamblea General sobre la Prevención y el Control de las Enfermedades No Transmisibles. Resolución A/66/L1 (2011).
5. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* 2018; 392: 1789–8583.
6. Taboada, A., & Talavera, I. (enero-febrero 2011). Prevalencia de Gingivitis en una población preescolar del oriente de la Ciudad de México. *Bol Med Hosp Infant Mex*, Vol. 68, 21-25.
7. Sánchez, M., Román, V., Dávila, M., & González, P. (abril-junio, 2011). Salud bucal en pacientes adultos mayores y su asociación con la calidad de vida. *Revista de especialidades Médico-Quirúrgicas*; Vol. 16 No.2, 110-115.
8. López, L., Gracia, M., Hernández, A., Sánchez E., López, M., & Sánchez S. (2013). La caries, gingivitis, periodontitis y la maloclusión siguen siendo las afecciones estomatológicas más frecuentes en la población. *iMedPub Journals*, Vol. 9 No. 4:2, 1-10.
9. Carvajal, P. (agosto 2016). Enfermedades periodontales como un problema de salud pública: el desafío del nivel primario de atención en salud. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, Vol. 9. Núm. 2, 177-183.
10. American Academy of Periodontology. (20 de agosto de 2021). Recuperado de: <https://www.perio.org/publications>
11. Vanaclocha B, & Cañigueral S. (2019). *Fitoterapia, Vademécum de Prescripción*. 5ª ed. Barcelona: Elsevier. ISBN: 978-84-9113-299-8
12. Castro, A., & Viviana M. (2012). Inhibición del crecimiento *in vitro* de *Streptococcus mutans* por papaína y Sanitrend. [Título profesional]. Departamento de Patología, Área Microbiología, Repositorio Académico de la Universidad de Chile. <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/176674>

13. Zaragoza, M., & Calixto, B. (junio 2012). Actividad antimicrobiana del Papacarie® contra *Streptococo mutans* aislado de saliva. *Odonto Pediatría Actual*, Vol. 2. Num.3, 18-22.
14. Armendáriz T., & Aracelly K. (2018). Evaluación de la actividad antimicrobiana y proteolítica de extractos obtenidos de las especies vegetales papaya (*Carica Papaya*), Higo (*Ficus Carica*) (Licenciatura). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba. <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/9026>
15. Balcázar, J., & Sterling, A. (2012). Obtención de papaína a partir del látex de la Carica papaya por medio de un sistema de dos fases acuosas (Maestría). Universidad del valle, Facultad de Ingeniería en Santiago de Cali. <http://hdl.handle.net/10893/16744>
16. López, E., & Montero, M. (2018). Efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de orégano (*Origanum Vulgare*) sobre cepas certificadas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. (Licenciatura). Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias Agropecuarias. <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/27546>
17. Schovelin, A., & Muñoz, Marlene. (2018). Efecto Antibacteriano de la Infusión de Orégano (*Origanum Vulgare*) sobre el Crecimiento in vitro de *Streptococcus mutans*, 2015. *Revista Int. J. Odontostomat*, Vol. 14. Num.4, 337-342
18. Hernández, T., García, M., Serrano, R., Ávila, G., Dávila, P., Cervantes, H., Peñalosa, I., Flores, M., & Lira, R. (2015). Fitoquímica y Actividades Biológicas de plantas de importancia en la medicina tradicional del Valle de Tehuacan-Cuicatlan. *Tip revista especializada en ciencias químico-biológicas*, Vol.18 No.2, 116–121.
19. Amadio, C.; Medina, R.; Dediol, C.; Zimmermann, M. E. & Miralles, S. (2011) Aceite esencial de orégano: un potencial aditivo alimentario. *Rev. Fac. Cienc. Agrar. Univ. Nac. Cuyo*, Vol.43, 237-45.
20. Kaurinovic, B. & Popovic M. (2012). *Liposomes as a Tool to Study Lipid Peroxidation*. In: Catala, A. (Ed.). *Lipid Peroxidation*. London, InTech.
21. Abdul Qadir, M., Shahzadi, S. K., Bashir, A., Munir, A., & Shahzad, S. (2017). Evaluation of Phenolic Compounds and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Some Common Herbs. *Int J Anal Chem*. Vol. 2017. Id. de artículo 3475738: <https://doi.org/10.1155/2017/3475738>
22. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. 10a ed.: Secretaría de Salud; 2011.

23. Lozano, C., Cordoba, M., & Córdoba D. (2012). *Manual de tecnología farmacéutica*. Barcelona, España: Elsevier. ISBN: 9788490220009
24. Vila Jato, J.L. (2001) *Tecnología Farmacéutica, Volumen II: Formas*. Editorial Síntesis. Madrid. ISBN: 84-7738-538-6
25. Kermany BP. (2011). *Carbopol Hydrogels for Topical Administration: Treatment of wounds Tromso: University of Tromso, Faculty of Health Sciences*.
26. Informa Healthcare. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation*. 2a ed. Gibson M, editor. New York: Informa Healthcare.
27. Diario Oficial de la Federación. *Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2015, Estabilidad de Fármacos y Medicamentos, así como remedios Herbolarios*.
28. Hernández Domínguez L C., Abraham Juárez M.R., Martínez Jaime O.A., Pérez Becerra L., Mares Mares E. (2016). *ACEITE ESENCIAL DE OREGANO COMO POTENCIAL NUTRACÉUTICO*. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Vol. 1, 453-458.
29. Theodore L. Brown, H. Eugene LeMay, Jr., Bruce E. Bursten, Julia R. Burdge. (2013). *Química: la Ciencia Central*. Editorial Pearson Educación.
30. Cockerill. (2015). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Clinical and Laboratory Standards Institute, 22nd Informational Supplement.
31. Stephen J. Cavalieri. (2011). *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana*. American Society for Microbiology.
32. Lázaro Muñiz, D. E. (2012). *Preformulación y formulación de un gel reductor con extracto de toronja (Licenciatura)*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Anexos

Anexo 1 Datos de proveedor de las hojas de *Origanum Vulgare*.



Dirección: Carr. México-Piedras Negras #3410,
Zona Industrial, San Luis Potosí, S.L.P. México
Correo electrónico: contacto@alimentoscompean.com
Teléfono: +524448247005 ext. 131
Página web: <https://www.alimentoscompean.com/>

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Versión 8.1
Fecha de revisión 04/25/2021
Fecha de impresión 05/16/2021

SECCIÓN 1. Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Papaína (de Carica papaya) hidrosoluble 30
000 -U/mg para fines bioquímicos EC
3.4.22.2

Referencia : 1.07144
Artículo número : 107144
Marca : Millipore

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Análisis químico, Producción química

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Merck, S.A de C.V
Calle 5 No. 7 C.P.
53370 NAUCALPAN DE JUÁREZ, EDO. DE MÉXICO.
MEXICO

Teléfono : +52 (55)-2122-1600
Fax : +52 (55)-2122-1703

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 800-00-214-00 (SETIQ)
800-681-9531 (CHEMTREC)
(55) 55-59-15-88

SECCIÓN 2. Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Clasificación SGA de acuerdo con 29 CFR 1910 (OSHA HCS).

Irritación cutáneas (Categoría 2), H315
Irritación ocular (Categoría 2A), H319
Sensibilización respiratoria (Categoría 1), H334
Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única (Categoría 3), Sistema respiratorio, H335

Anexo 3 Datos de seguridad cepa *S. Mutans* ATCC25175.



SAFETY DATA SHEET

SECTION 1) IDENTIFICATION

Product ID:	25175	Date Printed:	Feb 18, 2021
Product Name:	Streptococcus mutans	Supersedes Date:	N.A.
Revision Date:	Nov 30, 2020		
Version:	1.0		
Manufacturer's Name:	American Type Culture Collection		
Address:	10801 University Blvd., Manassas, VA, US, 20110-2209		
Emergency Phone:	703-365-2710 or 800-424-9300 (Chemtrec - transport only)		
Information Phone Number:	800-638-6597 or 703-365-2700		
Fax:	703-365-2701		
Product/Recommended Uses:	For lab use only		

SECTION 2) HAZARDS IDENTIFICATION

Classification of the substance or mixture

Not a hazardous substance or mixture according to United States Occupational Safety and Health Administration (OSHA) Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200).

Hazard not otherwise classified (HNOC)

Biosafety Level 1 - Agents not known to consistently cause disease in healthy adults and present minimal potential hazard to laboratory personnel and the environment.

Procedimientos de manejo:

1. Abra el vial de acuerdo con las instrucciones adjuntas o visite www.atcc.org para obtener instrucciones.
2. Rehidrate todo el precipitado con aproximadamente 0,5 ml de agar/caldo de infusión de cerebro y corazón.
Transfiera asépticamente todo el contenido a un tubo de 5-6 ml de agar/caldo de infusión de cerebro y corazón.
Se pueden inocular tubos de ensayo adicionales transfiriendo 0,5 ml del tubo de caldo primario a estos tubos secundarios.
3. Use varias gotas del tubo de caldo primario para inocular una placa de infusión de cerebro y corazón y/o una placa inclinada de agar de infusión de cerebro y corazón.
4. Incubar a 37°C durante 24 a 48 horas.

Anexo 4 Datos de seguridad cepa *S. Aureus* ATCC 25923.



SAFETY DATA SHEET

SECTION 1) IDENTIFICATION

Product ID:	25923	Date Printed:	Jan 22, 2021
Product Name:	Staphylococcus aureus subsp. aureus	Supersedes Date:	Aug 18, 2017
Revision Date:	Dec 23, 2020		
Version:	2.0		
Manufacturer's Name:	American Type Culture Collection		
Address:	10801 University Blvd., Manassas, VA, US, 20110-2209		
Emergency Phone:	703-365-2710 or 800-424-9300 (Chemtrec - transport only)		
Information Phone Number:	800-638-6597 or 703-365-2700		
Fax:	703-365-2701		
Product/Recommended Uses:	For lab use only		

SECTION 2) HAZARDS IDENTIFICATION

Classification of the substance or mixture

Not a hazardous substance or mixture according to United States Occupational Safety and Health Administration (OSHA) Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200).

Hazard not otherwise classified (HNOC)

Biosafety Level 2 - Agents associated with human disease and pose moderate hazards to laboratory personnel and the environment.

Procedimientos de manejo:

1. Abra el vial de acuerdo con las instrucciones adjuntas.
2. Con un solo tubo de caldo Trypticase soya (5 a 6 ml), extraiga aproximadamente de 0,5 a 1,0 ml con una pipeta Pasteur o de 1,0 ml. Rehidratar todo el pellet.
3. Transferir asépticamente esta alícuota de vuelta al tubo de caldo. Mezclar bien.
4. Utilice varias gotas de la suspensión para inocular una placa inclinada y/o una placa de agar de soya Trypticase.
5. Incube los tubos y la placa a 37°C durante 24 horas.

Vo. Bo. del (la) o los (las) asesores (as) respecto a los contenidos académicos

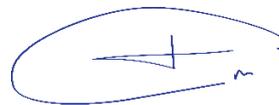


Dra. Norma Angélica Noguez Méndez

Nombre y firma del asesor interno

Cargo

No. económico: 17902



M. en I. Alejandro Rubio Martínez

Nombre y firma del asesor externo

Cargo

No. de cédula profesional: 9252573