

---

*Diseño de una emulsión tópica formulada a partir de Escualeno extraído de semillas de amaranto (Amaranthus hypochondriacus) con posible uso antidiabético*

---

Proyecto genérico: Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

Etapas: Extracción de principios activos o sustancias auxiliares a partir de productos naturales.

**Presentado por:**

***Laura Patricia Lugo Torres***

**Matrícula: 2123024753**

**Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo**

**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**

**Departamento de Sistemas Biológicos**

**Asesor: M. en C. Francisco López Naranjo**

**Lugar de realización: Laboratorio 109 Fármacos Huérfanos y Excipientes.  
Unidad Interdisciplinaria de Docencia Investigación y Servicio (UIDIS) de  
la Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco.**



**Ciudad de México, Febrero de 2020.**

## *Agradecimientos*

Reconozco con gratitud el apoyo y paciencia del M. en C. Francisco López Naranjo.

Al tesoro de mi vida que es mi familia; mis padres Paty y Martin, mis hermanos Martin, Jovana y Carlos, así como a mi sobrino Carlitos. A quienes agradezco infinitamente el amor que recibo, la confianza, el consejo y la guía.

A Jorge Alberto Avalos Rioja, mi compañero incondicional durante mi estancia universitaria, gracias por tanto.

A mis amigos y maravilloso equipo Kevin Heredia, Luis Alberto Hernández y Montserrat Moreno.



# Diseño de una emulsión tópica formulada a partir de Escualeno extraído de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) con posible uso antidiabético

## CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>4</b>
<b>2. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS</b>	<b>5</b>
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>7</b>
<b>4. OBJETIVO GENERAL</b>	<b>8</b>
<b>5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>8</b>
<b>6. HIPÓTESIS</b>	<b>8</b>
<b>7. MARCO TEÓRICO</b>	<b>9</b>
7.1. DIABETES MELLITUS	9
7.2. ESTRÉS OXIDATIVO	10
7.3. ESCUALENO	11
7.3.1. <i>Propiedades Físicas</i>	11
7.3.1.1. Descripción física	11
7.3.1.2. Densidad	11
7.3.2. <i>Propiedades Químicas</i>	11
7.3.2.1. Estructura 2D	11
7.3.2.2. Estructura 3D	11
7.3.2.3. Formula molecular	12
7.3.2.4. Nombre IUPAC	12
7.3.3. <i>Datos históricos del Escualeno</i>	12
7.3.4. <i>Propiedades Experimentales</i>	12
7.3.5. <i>Mecanismo de Acción (Antioxidante)</i>	13
7.4. AMARANTO	13
7.4.1. <i>Geografía</i>	14
7.4.2. <i>Datos Históricos del amaranto</i>	14
7.4.2.1. Domesticación del Amaranto	15
7.4.3. <i>Fitología y clasificación</i>	16
7.4.4. <i>Zonas productoras y sistemas de producción de Amaranto</i>	17
7.4.4.1. Características de la semilla	19
7.4.4.2. Composición de la semilla	21
7.4.5. <i>Aplicaciones alimentarias</i>	22
7.4.6. <i>Uso Terapéutico</i>	24
7.4.7. <i>Otros usos</i>	24
7.4.8. <i>Metabolitos secundarios</i>	25
7.4.8.1. Cumarinas	25
7.4.8.2. Saponinas	25
7.4.8.3. Terpenos	26
7.4.8.4. Flavonoides	27
7.4.8.5. Antocianinas	28
7.4.8.6. Quinonas	28
7.4.8.7. Taninos	29
7.4.8.8. Alcaloides	29

7.5.	ETNOFARMACOLOGÍA.....	30
7.6.	FARMACOGNOSIA.....	31
7.7.	EXTRACTOS NATURALES.....	32
7.8.	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.....	32
7.9.	EXTRACCIÓN POR SOXHLET.....	32
7.10.	EMULSIÓN.....	33
7.10.1.	<i>Tipos de Emulsiones</i> .....	34
7.10.1.1.	Emulsión w/o.....	35
7.10.2.	<i>Características</i> .....	35
<b>8.</b>	<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>37</b>
8.1.	METODOLOGÍA BOTÁNICA.....	37
8.1.1.	<i>Recolección de muestras para obtención de productos químicos</i> .....	37
8.1.2.	<i>Tratamiento de la Planta</i> .....	38
8.2.	METODOLOGÍA DE PREPARACIÓN DEL EXTRACTO.....	38
8.2.1.	<i>Extracción por Soxhlet</i> .....	38
8.2.1.1.	Extracción por Soxhlet con Hexano.....	38
8.2.1.2.	Extracción por Soxhlet con mezcla Hidroalcohólica.....	38
8.2.1.3.	Extracción por Soxhlet con Éter etílico.....	38
8.2.2.	<i>Ensayos de identidad</i> .....	39
8.2.2.1.	Tamizaje fitoquímico.....	39
8.2.2.1.1.	Identificación de Cumarinas.....	39
8.2.2.1.2.	Identificación de Saponinas.....	39
8.2.2.1.3.	Identificación de Triterpenos.....	40
8.2.2.1.4.	Identificación de Flavonoides.....	40
8.2.2.1.5.	Identificación de Antocianinas.....	40
8.2.2.1.6.	Identificación de Quinonas.....	40
8.2.2.1.7.	Identificación de Taninos.....	41
8.2.2.1.8.	Identificación de Alcaloides.....	41
8.2.2.2.	Cromatografía en Capa Fina.....	41
8.3.	METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DEL PRODUCTO FARMACÉUTICO.....	43
8.3.1.	<i>Excipientes</i> .....	43
8.3.2.	<i>Formulación de Emulsión</i> .....	45
8.3.3.	<i>Preparación de la emulsión</i> .....	48
8.3.4.	<i>Pruebas fisicoquímicas</i> .....	50
8.3.4.1.	Apariencia.....	50
8.3.4.2.	Prueba de Irritabilidad en piel.....	50
8.3.4.3.	Viscosidad.....	50
8.3.4.4.	Prueba de centrifugación.....	52
8.3.4.5.	Determinación de pH.....	53
8.3.4.5.1.	Determinación con indicador químico.....	53
8.3.4.5.2.	Medición con potenciómetro.....	53
8.3.4.6.	Prueba de extensibilidad.....	54
<b>9.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>54</b>
9.1.	EXTRACCIÓN POR SOXHLET.....	54
9.2.	ENSAYOS DE IDENTIDAD.....	55
9.2.1.	<i>Tamizaje fitoquímico</i> .....	55
9.2.2.	<i>Cromatografía en capa fina</i> .....	56
9.3.	OBTENCIÓN DEL PRODUCTO FARMACÉUTICO.....	57
9.4.	PRUEBAS FISICOQUÍMICAS.....	57
9.4.1.	<i>Apariencia</i> .....	57
9.4.2.	<i>Prueba de irritabilidad en piel</i> .....	58
9.4.3.	<i>Viscosidad</i> .....	58

9.4.4.	<i>Centrifugación</i> .....	58
9.4.5.	<i>Determinación de pH</i> .....	59
9.4.6.	<i>Prueba de extensibilidad</i> .....	59
<b>10.</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS</b> .....	<b>60</b>
10.2.	EXTRACCIÓN POR SOXHLET .....	60
10.3.	ENSAYOS DE IDENTIDAD .....	61
10.3.1.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO .....	61
10.3.2.	<i>Cromatografía en capa fina</i> .....	61
10.4.	OBTENCIÓN DEL PRODUCTO FARMACÉUTICO .....	61
10.5.	PRUEBAS FISICOQUÍMICAS .....	61
<b>11.</b>	<b>CONCLUSIÓN</b> .....	<b>62</b>
<b>12.</b>	<b>EXPECTATIVAS</b> .....	<b>62</b>
<b>13.</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>64</b>

## 1. Introducción

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, y la higiene e hidratación de esta son aspectos que a menudo se descuidan, lo que expone al paciente a mayor riesgo para desarrollar infecciones en este tejido, lo cual puede ser agravado por los efectos nocivos de algunas enfermedades como la diabetes. Ensayos previos sugieren que la hiperglucemia y la disminución de la señal de insulina están implicadas en el deterioro de la función cutánea. Parece que la diabetes, similar a otros trastornos endocrinos, puede causar algunas complicaciones que pudieran derivarse de alteración del homeostasis de la piel (*Seirafi, 2009*). La alta prevalencia de trastornos cutáneos en pacientes con Diabetes Mellitus, demuestra que es necesario el cuidado dermatológico, reduciendo así la morbilidad y las complicaciones relacionadas con la piel (*Campos et.al., 2016*).

Las especies reactivas de oxígeno / nitrógeno (ROS / RNS) desempeñan un doble papel en el ser humano como compuestos beneficiosos y nocivos. La sobreproducción de ROS y RNS produce estrés oxidativo (OS), que es un factor importante del daño a la función y las estructuras celulares (*Pisoschi et. al., 2015*). El estrés oxidativo, también es un factor importante en la aparición de varias enfermedades, tales como enfermedades cardiovasculares, diabetes, trastornos neurológicos, cáncer y envejecimiento (*Andreescu et. al., 2011*). Por lo tanto, los agentes con la capacidad de proteger contra ROS / RNS pueden ser terapéuticamente útiles. En los últimos años, los compuestos fenólicos han ganado intereses particulares como agentes beneficiosos y promotores de la salud debido a su alta actividad antioxidante.

El estrés oxidativo OS constituye una situación de desequilibrio entre agentes oxidantes y antioxidantes a favor de los primeros, es el producto del desequilibrio de la relación de la cantidad de ROS frente a la capacidad del organismo de eliminarlos. En los diabéticos existe una mayor producción de ROS y debilitamiento de las defensas antioxidantes responsables de la eliminación de los radicales libres (*Anu, 2014*). Los radicales libres son capaces de producir daño en distintos tejidos y contribuir al establecimiento de las complicaciones tardías de la diabetes (*Eshaq, 2014*), pueden atacar los dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados induciendo la lipoperoxidación, lo cual puede producir un mayor daño celular oxidativo. Sin embargo, tales daños pueden ser prevenidos o moderados por un sistema antioxidante (*Colucci, 2010*).

El Escualeno es un ingrediente importante en cosméticos para la piel, debido a sus propiedades antioxidantes y fotoprotectoras, además de ser un intermediario para generar colesterol y parte de nuestra piel que se pierde con la edad. Las semillas de ***Amaranthus hypochondriacus*** son potencialmente una fuente importante de Escualeno (*Han-Ping et al., 2002*).

Se ha reportado que los aceites de la semilla de amaranto contienen mayor cantidad de Escualeno (2,4-8,0%) que otros vegetales comunes. El contenido de Escualeno presente en ***Amaranthus hypochondriacus*** se ha calculado de 0.73% respecto al peso total de la semilla (*Marcone, 2000*).

El amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***) es un cultivo de gran importancia en México, es nutritivo y barato (*López-Mejía, 2014*). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue diseñar la formulación de una emulsión tópica con capacidad antioxidante a partir de Escualeno extraído de semillas de amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***), con posible uso para pacientes diabéticos.

## 2. Definiciones y Abreviaturas

<b>Droga vegetal:</b>	A la parte de una planta, generalmente desecada utilizada con fines medicamentosos o industriales
<b>Excipiente:</b>	Cualquier sustancia, distinta del ingrediente farmacéutico activo o del producto farmacéutico, que ha sido evaluada de manera apropiada respecto a su seguridad y que se incluye en un sistema de liberación de fármacos para ayudar al procesamiento del mismo durante su fabricación; para proteger, mantener o mejorar la estabilidad, biodisponibilidad o aceptación por parte del paciente; para ayudar a la identificación del producto o mejorar cualquier otro atributo general de seguridad y eficacia del sistema de liberación de fármacos durante el almacenamiento o el uso ( <i>USP, 2007</i> ).
<b>Emulsificantes:</b>	Sustancias anfílicas con afinidad por la fase dispersa y el medio dispersante, que son insolubles en por lo menos, una de las fases (tensoactivos)

<b>Fármaco:</b>	Toda sustancia natural, sintética o biotecnológica que tenga alguna actividad farmacológica, y que se identifique por sus propiedades físicas, químicas o acciones biológicas, que no se presenten en forma farmacéutica y que reúna las condiciones para ser empleada como medicamento o ingrediente de un medicamento.
<b>Forma farmacéutica:</b>	Disposición física que se da a los fármacos y aditivos para constituir un medicamento y facilitar su dosificación y administración.
<b>Medicamento:</b>	Toda sustancia o mezcla de sustancias de origen natural o sintético que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica y se identifique como tal por su actividad farmacológica, características físicas, químicas y biológicas. Cuando un producto contenga, nutrimentos será considerado como medicamento, siempre que se trate de un preparado que contenga de manera individual o asociada: vitaminas, minerales, electrólitos, aminoácidos o ácidos grasos, en concentraciones superiores a las de los alimentos naturales y además se presente en alguna forma farmacéutica definida y la indicación de uso contemple efectos.
<b>Medicamento herbolario:</b>	Producto elaborado con material vegetal o algún derivado de éste, cuyo ingrediente principal es la parte aérea o subterránea de una planta o extractos y tinturas, así como jugos, resinas, aceites grasos y esenciales, presentado en forma farmacéutica, cuya eficacia terapéutica y seguridad ha sido confirmada científicamente en la literatura nacional o internacional.
<b>O:</b>	Aceite
<b>rpm:</b>	Revoluciones por minuto
<b>SRef:</b>	Sustancia de referencia
<b>W:</b>	Agua



### 3. Justificación

Las complicaciones cutáneas son comunes en la diabetes. Los costos de salud para las personas con diabetes son 2,3 veces mayores que la población no diabética (*Donald et al., 2014*). Se calcula que en 2014 la prevalencia mundial de la diabetes fue del 9% entre los adultos mayores de 18 años, según proyecciones de la OMS, la diabetes será la séptima causa de mortalidad en 2030 (*OMS, 2015*).

El Escualeno es un hidrocarburo alifático altamente insaturado y pertenece al grupo de aceites triterpenos, es un componente importante en productos para el cuidado de la piel y como lubricante industrial resistente a la oxidación. Se ha demostrado que es un fuerte antioxidante.

El aceite de hígado de tiburón es la fuente natural más rica de Escualeno. Una razón limitante en el uso de esta fuente natural de Escualeno está representada por la presencia de diferentes contaminantes orgánicos persistentes (COP) en el ambiente marino, como PCB (bifenilo policlorado), PBDE (diphenylether polibromado), pesticidas organoclorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, dioxina y metales pesados. Su uso en la industria farmacéutica puede plantear problemas debido a la posible presencia de diversos patógenos con los cuales los tiburones podrían infectarse y, por lo tanto, la infección se transmite a los humanos.

La pesca intensiva de estos tiburones pone en peligro la existencia de estas especies, muchas de ellas cercanas a la extinción ya que su ciclo reproductivo es bastante largo y el crecimiento es lento. Es por eso que Europa redujo drásticamente en el último período las cuotas de pesca de estas especies de tiburones y, al mismo tiempo, el mercado europeo parece cambiar a Escualeno de origen vegetal, al menos en los cosméticos.

Por estos motivos, hoy existe un gran interés en encontrar nuevas fuentes naturales de Escualeno, especialmente vegetales. El Escualeno también se identificó en muchos aceites vegetales en diferentes concentraciones. Cronológicamente, el primer aceite vegetal en el que se encontró fue el aceite de oliva. Debido a esta situación, la atención se ha centrado en identificar las fuentes de extracción.

El Escualeno se puede extraer de aceite de oliva, levadura, arroz, maíz, cacahuate, soja y destilado desodorante de aceite de oliva. Sin embargo, una fuente potencial de Escualeno es la semilla de amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***), porque su aceite contiene cantidades considerablemente más altas de Escualeno que otros aceites vegetales. Un amplio estudio realizado sobre 104 genotipos de 30 especies de amaranto reveló concentraciones de

Escualeno entre 10.4 y 73.0 g / kg de aceite de amaranto (Corke, 2010). El contenido de aceite en las semillas de amaranto es de 4 a 8%, pero el aceite de semillas de amaranto contiene 6 a 8% de Escualeno (aproximadamente 0,4% de la masa total de semillas) de Escualeno (Westerman, 2006).

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables e intentan revertir a fases separadas de agua y aceite a través del tiempo mediante varios mecanismos fisicoquímicos, que incluyen coalescencia, separación gravitacional, floculación, maduración de Ostwald y separación de fases (McClements, 2014). Esto dificulta su aplicación más generalizada. En farmacia y medicina, las emulsiones se usan de forma limitada para la administración oral y parenteral de medicamentos debido a sus perfiles impredecibles de liberación de fármacos y la posible toxicidad que se deriva de la inestabilidad de la emulsión (Budai-Szucs, 2008), por tal motivo, el producto obtenido del presente proyecto, fue diseñado para administración tópica.

#### 4. Objetivo General

- Diseñar una emulsión tópica formulada a partir de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) con posible uso antidiabético.

#### 5. Objetivos Específicos

- Extraer Escualeno a partir de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*).
- Identificar algunos de los componentes de *Amaranthus hypochondriacus* principalmente el Escualeno.
- Obtener un producto farmacéutico estable.
- Realizar pruebas de control de calidad para la emulsión.
- Realizar pruebas fisicoquímicas requeridas para la estabilidad de la emulsión.

#### 6. Hipótesis

Es posible obtener una emulsión tópica estable, formulada a partir de Escualeno extraído de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*).

El método de extracción Soxhlet permite la obtención de aceite de Escualeno a partir de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*).

La elección adecuada de los excipientes optimiza la estabilidad del producto farmacéutico.

El tamizaje fitoquímico permite determinar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto de Escualeno obtenido a partir de semillas de amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***).

## 7. Marco Teórico

### 7.1. Diabetes Mellitus

La diabetes es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia (nivel alto de glucosa en la sangre) resultante de defectos en la secreción de insulina, acción de la insulina o ambas. La hiperglucemia crónica de la diabetes se asocia con daño a largo plazo, disfunción y falla de diferentes órganos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos.

Varios procesos patogénicos están involucrados en el desarrollo de la diabetes. Estos van desde la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  del páncreas con la consiguiente deficiencia de insulina hasta anomalías que resultan en resistencia a la acción de la insulina. La base de las anomalías en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas en la diabetes es la acción deficiente de la insulina en los tejidos objetivo. La acción de insulina deficiente resulta de la secreción inadecuada de insulina y / o la disminución de las respuestas de los tejidos a la insulina en uno o más puntos en las vías complejas de la acción hormonal. El deterioro de la secreción de insulina y los defectos en la acción de la insulina con frecuencia coexisten en el mismo paciente.

Los síntomas de hiperglucemia marcada incluyen poliuria (excreción muy abundante de orina), polidipsia (sed excesiva), pérdida de peso, a veces con polifagia (apetito excesivo) y visión borrosa. El deterioro del crecimiento y la susceptibilidad a ciertas infecciones también pueden acompañar a la hiperglucemia crónica. Las consecuencias agudas y potencialmente mortales de la diabetes no controlada son la hiperglucemia con cetoacidosis o el síndrome hiperosmolar no cetótico.

Las complicaciones a largo plazo de la diabetes incluyen retinopatía con posible pérdida de visión; nefropatía que conduce a insuficiencia renal; neuropatía periférica con riesgo de úlceras en los pies, amputaciones y articulaciones de Charcot (enfermedad del sistema nervioso central con degeneración de los nervios que llevan las señales correspondientes a

los músculos, se caracteriza por debilidad asimétrica en el cuerpo, usualmente de un miembro inferior); y neuropatía autonómica que causa síntomas gastrointestinales, genitourinarios y cardiovasculares y disfunción sexual. Los pacientes con diabetes tienen una mayor incidencia de enfermedad aterosclerótica cardiovascular, arterial periférica y cerebrovascular. La hipertensión y las anomalías del metabolismo de las lipoproteínas a menudo se encuentran en personas con diabetes.

La gran mayoría de los casos de diabetes se dividen en dos amplias categorías etiopatogénicas. En una categoría, diabetes tipo 1, la causa es una deficiencia absoluta de la secreción de insulina. Las personas con mayor riesgo de desarrollar este tipo de diabetes a menudo se pueden identificar por evidencia serológica de un proceso patológico autoinmune que ocurre en los islotes pancreáticos y por marcadores genéticos. En la otra categoría, mucho más prevalente, la diabetes tipo 2, la causa es una combinación de resistencia a la acción de la insulina y una respuesta secretora de insulina compensatoria inadecuada. En la última categoría, un grado de hiperglucemia suficiente para causar cambios patológicos y funcionales en varios tejidos objetivo, pero sin síntomas clínicos, puede estar presente durante un largo período de tiempo antes de que se detecte la diabetes (*American Diabetes Association, 2010*).

## 7.2. Estrés Oxidativo

Un radical libre es una especie química definida que tiene en su estructura uno o más electrones desapareados, lo que lo convierte en un compuesto altamente inestable y fugaz con gran capacidad de formar otros radicales libres por reacciones químicas en cadena. Una vez generados, los radicales libres aparean rápidamente el electrón desapareado uniéndose a otro radical libre o, cediendo o arrancando un electrón a una estructura molecular adyacente no radicalaria, con el fin de estabilizarse. La vida aeróbica precisa oxígeno para oxidar los nutrientes provenientes de la dieta y así obtener energía. La reducción parcial de la molécula de oxígeno puede generar especies reactivas de oxígeno.

Naturalmente, el cuerpo humano produce especies reactivas de oxígeno asociadas con diabetes, cáncer, enfermedades crónicas y cardiovasculares (*Wickramaratne et al., 2016*). Por lo tanto, se ha sugerido que los antioxidantes de productos naturales en términos de compuestos fenólicos son componentes importantes que pueden eliminar especies reactivas de oxígeno (*Xu et al., 2016*). Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios (*Mojzer et al., 2016; Orrù, 2008*).

## 7.3. Escualeno

### 7.3.1. Propiedades Físicas

#### 7.3.1.1. Descripción física

Líquido oleoso transparente ligeramente amarillento con un olor ligero y agradable (O, Neil, 2013).

#### 7.3.1.2. Densidad

0.858 g/ cm<sup>3</sup>

### 7.3.2. Propiedades Químicas

Soluble en éter dietílico, insoluble en agua a 20 °C

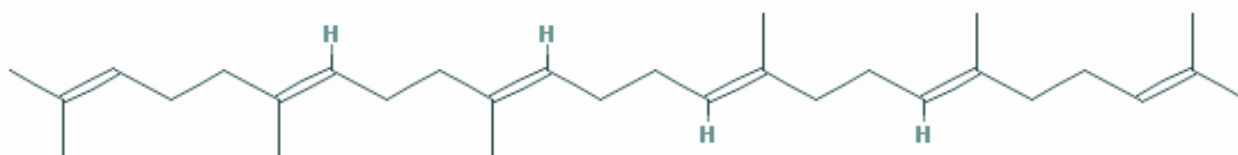
**Masa molar:** 410.72 g/mol

**Punto de ebullición:** 275 °C a 20 hPa

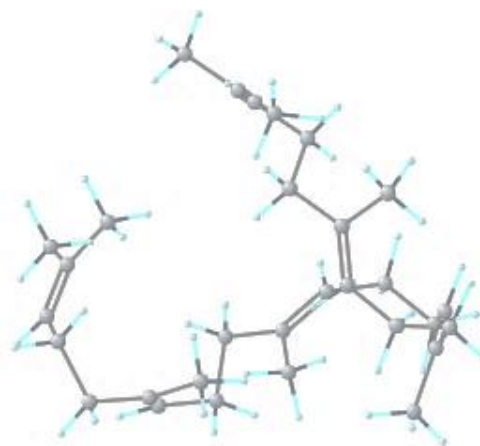
**Punto de inflamación:** 200 °C aproximadamente

**Viscosidad:** 15 mPa.s a 20 °C

#### 7.3.2.1. Estructura 2D



#### 7.3.2.2. Estructura 3D



### 7.3.2.3. *Formula molecular*

C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>

### 7.3.2.4. *Nombre IUPAC*

(6E, 10E, 14E, 18E) -2,6,10,15,19,23-hexametiltetracosano-2,6,10,14,18,22-hexeno

### 7.3.3. *Datos históricos del Escualeno*

El Escualeno fue descubierto en 1906 por el investigador japonés Dr. Mitsumaru Tsujimoto, un experto en aceites y grasas en la estación de pruebas industriales de Tokio. Separó la fracción insaponificable del aceite de hígado de tiburón "kuroko-zame" y descubrió la existencia de un hidrocarburo altamente insaturado. Diez años más tarde, Tsujimoto logró obtener por vacío fraccional del aceite de hígado de dos especies de tiburones de aguas profundas, un hidrocarburo insaturado, con la fórmula química C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>, que denominó "Escualeno". El nombre proviene de la denominación de la familia de los tiburones: Squalidae (*Ovidiu et al., 2014*).

### 7.3.4. *Propiedades Experimentales*

El Escualeno juega un papel esencial en la protección de la piel contra el daño oxidativo de los radicales libres. El Escualeno actúa en la piel como un inhibidor del oxígeno singlete, protegiendo mediante este mecanismo la superficie de la piel de la peroxidación lipídica debida a la exposición a la luz ultravioleta. Existen experimentos que muestran que la tasa constante de enfriamiento del oxígeno singlete por el Escualeno es mucho más alta que la de otros lípidos en la piel humana, también se afirma que parece poco probable que aparezca la reacción en cadena de la peroxidación lipídica en la piel humana cuando están presentes niveles adecuados de Escualeno.

El Escualeno no es particularmente susceptible a la peroxidación y es estable contra los ataques de radicales peróxido, por lo que se obtiene un efecto protector de la piel expuesta a la radiación UV cuando los niveles apropiados de Escualeno están presentes en la piel. Su concentración total en la piel y la relación Escualeno / colesterol varían con el sitio de la piel (*Huang et al., 2009*).

Algunos experimentos en animales sugieren el efecto protector del Escualeno contra la CHD (cardiopatía coronaria), explicado por su efecto para inhibir la peroxidación lipídica inducida por isoprenalina (*Farvin, 2006*).

### 7.3.5. Mecanismo de Acción (Antioxidante)

Muchos compuestos antioxidantes actúan mediante un único mecanismo, pero otros, como los compuestos fenólicos pueden tener acciones combinadas. Los compuestos fenólicos estabilizan los radicales libres al ceder un hidrógeno de sus grupos hidroxilos, formándose un puente de hidrógeno entre dos grupos cercanos. El grado de actividad de los compuestos fenólicos y de otros antioxidantes, está relacionado con el número de grupos hidroxilo que posee la molécula. Cabe destacar también que se ha descrito un sinergismo entre distintas moléculas antioxidantes *in vitro* e *in vivo* (Fitó, 2003).

En pacientes diabéticos, las secreciones sebáceas disminuyen notablemente, provocando la baja de pH cutáneo. La alteración en el contenido de este tipo de lípidos, también conocidos como ceramidas, está estrechamente relacionada con la alteración de la epidermis en su papel como barrera. El Escualeno, componente de la secreción sebácea, ejerce un papel de protección ante el estrés oxidativo inhibiendo la peroxidación lipídica y bloqueando la radiación UV (Amores *et. al.*, 2018).

### 7.4. Amaranto



**Figura 1. *Amaranthus hypochondriacus***

El amaranto es una planta que fue cultivada por los Mexicas en Mesoamérica desde la época precolombina, no se ha estudiado lo suficiente a pesar de las cualidades alimenticias que se le reconocen.

El amaranto es un género de plantas de importancia mundial que comprende más de 60 especies que se utilizan de forma dual para el consumo humano. Si bien los granos se usan como pseudocereales principalmente en América y Asia, las hojas también se consumen como vegetales de hoja en los países africanos (Zehring et al., 2015).

El amaranto es una planta considerada como un cultivo del tercer milenio debido a sus propiedades nutricionales y su versatilidad agronómica. El amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***) posee capacidad antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos totales, taninos condensados, antocianinas, alfa-tocoferol. Algunos estudios han demostrado que el amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***) cultivado en invernadero muestra valores altos para las antocianinas totales en hojas y alfa-tocoferol (hojas y semillas), mientras que, en el sistema de campo abierto, se encontraron valores más altos de inhibición de tripsina, capacidad antioxidante, compuestos fenólicos totales y taninos condensados en las hojas y semilla (Reyes e. al., 2018).

#### 7.4.1. Geografía

Las diferentes especies del género ***Amaranthus*** tienen la capacidad de adaptarse a diversos entornos bajo presiones ambientales como salinidad, baja humedad, altas temperaturas y presencia de insectos (Bressani, 2003). ***Amaranthus hypochondriacus***, una de las especies cultivadas del género ***Amaranthus***, es originario de México, tolera las condiciones de semiaridez, características de la región central del Valle de México (Moreno-Espíndola et al., 2013).

#### 7.4.2. Datos Históricos del amaranto

Estudios arqueobotánicos realizados en las cuevas del valle de Tehuacán, Puebla, cuya falta de humedad hizo posible la conservación de restos vegetales, permiten saber que nuestros antepasados cultivaron, desde los años 9 000 a 5 000 a. C., una mayor variedad de plantas comestibles que sus contemporáneos europeos; entre otras, diversas clases de chile, maíz, frijol, aguacate, cacahuate, tomate, ciruela, zapote, guayaba y calabaza. Otra de esas plantas es el amaranto, que en lengua náhuatl se conoce como *huauhtli*, *ahparie* en purépecha, *tez o xtes* en maya, *wa've* para los wixáricas o *guegui* en rarámuri y actualmente recibe el nombre de alegría en diversas regiones (Barros et. al., 1997).



El amaranto, es una planta antigua cultivada por los Mexicas en Mesoamérica desde la época prehispánica, que es apreciado por sus beneficios nutricionales y su antigua importancia religiosa. ***Amaranthus hypochondriacus*** es una de las especies de amaranto más importantes y se cosecha en México. Una forma común de comercializar semillas de amaranto es hinchándolas mediante un proceso de inflado.



**Figura 2.** Ilustración de hombre Mexica cosechando amaranto.

El amaranto se ha cultivado en Latinoamérica por miles de años y se cree que ha sido domesticado al menos tan pronto como 4 000 a. C. En la época prehispánica en el Nuevo Mundo era casi tan importante como el maíz y los frijoles, y se cree que proporcionó el 80% del consumo calórico de los Mexicas. Alrededor de 20,000 toneladas de amaranto se ofrecían anualmente como tributo.

El amaranto tenía uso ceremonial en los ritos agrícolas que practicaban los Mexicas en el Templo Mayor. El hecho de que con amaranto se elaboraran imágenes de diversas deidades constituye un dato importante para entender el papel que la masa de amaranto, llamada *tzoalli*, desempeñó en el ceremonial del recinto de los Mexicas y, a su vez, entender su uso ritual hasta nuestros días (Espitia, 2016).

#### **7.4.2.1. Domesticación del Amaranto**

La domesticación de diferentes tipos de amaranto para producción de grano tuvo lugar en América tropical y se desarrollaron las especies ***Amaranthus cruentus***, ***A. hypochondriacus*** y ***A. caudatus***. Uno de los pasos cruciales en la evolución de las especies de grano domesticadas fue la selección llevada a cabo por los antiguos agricultores en las formas mutantes: el tipo normal, de semillas negras, fue cambiado por el de semillas blancas, mutación que es extremadamente rara. Asociado al cambio de color, los granos presentaron

un mejor sabor y una mejor calidad de reventado, lo que facilitó que los agricultores eliminarán las semillas negras del cultivo, limitando el entrecruzamiento entre las plantas cultivadas y las malezas; de esta manera se favoreció la evolución divergente de las plantas domesticadas.

La selección artificial favoreció un tamaño más grande de las inflorescencias con más flores y por lo tanto una mayor producción de semillas, a pesar de que el tamaño individual no se incrementó. También se produjeron formas rojas brillantes. Los primeros agricultores apreciaron tanto la belleza de las plantas como su utilidad. La coloración roja presumiblemente ha tenido una connotación mágico-religiosa; los grupos indígenas zuñi y hopi cultivan el amaranto como fuente de pigmento.

#### 7.4.3. Fitología y clasificación

Actualmente se reconocen noventa especies de amaranto de grano y algunas son difíciles de identificar. Alrededor de setenta especies crecen como malezas. Dos especies, ***Amaranthus hypochondriacus*** y ***Amaranthus cruentus***, son nativas de México y Guatemala, y ***Amaranthus caudatus*** es nativo de los Andes del Perú. La vía fotosintética del amaranto es C4 y el complemento cromosómico es  $2n = 32$  (***A. caudatus*** y ***A. hypochondriacus***) o  $2n = 34$  (***A. cruentus***). Las plantas de ***Amaranthus hypochondriacus*** crecen hasta 3 m de altura y las de las otras dos especies alcanzan alturas de 2 m. Las cabezas de semillas pueden pesar hasta un kilogramo y pueden contener medio millón de frutas. Las frutas tienen solo 0.9–1.7 mm de diámetro y pueden variar de crema a oro o de rosa a negro.

Desde un punto de vista botánico, el amaranto se asigna a la familia de las Amarantáceas dicotiledóneas (Tabla 1), que se asignan a la familia de las gramíneas monocotiledóneas (***Pomaceae***). Aunque las 60 especies del género ***Amaranthus*** son nativas de muchas partes del mundo, la mayoría se consideran malezas, y solo una docena se cultiva con fines productivos. Las especies cultivadas producen una hoja alta y un alto rendimiento de grano. Tres especies del género ***Amaranthus*** producen grandes cabezas de semillas cargadas de semillas comestibles: ***Amaranthus hypochondriacus*** y ***Amaranthus cruentus***, que son nativas de México y Guatemala, se cultivan en los Estados Unidos, mientras que ***Amaranthus caudatus***, que es nativo de Perú y otros países andinos, no crece bien en los Estados Unidos. Las principales especies que se encuentran en todo México y en Guatemala y el suroeste de los Estados Unidos son ***A. hypochondriacus*** y ***A. cruentus***.



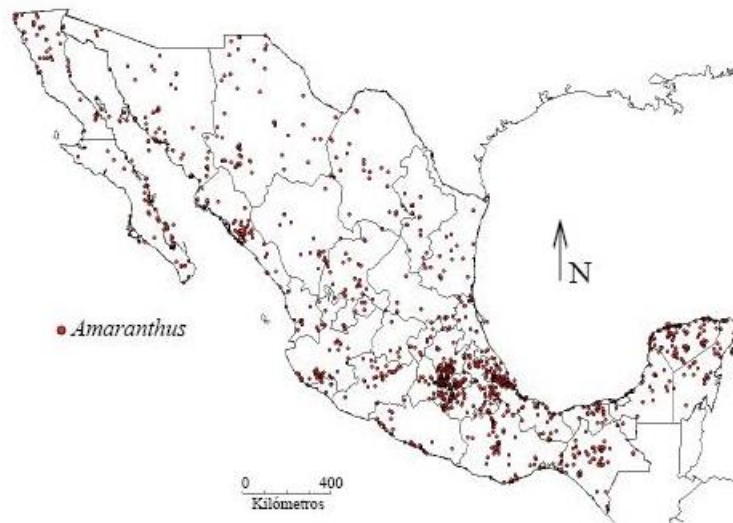
Tabla 1. Clasificación botánica del Amaranto	
Clase	<i>Dicotyledoneae</i>
Subclase	<i>Caryophyllidae</i>
Orden	<i>Caryophyllales</i>
Familia	<i>Amaranthaceae</i>
Género	<i>Amaranthus</i>
Especies	Al menos 60 especies <i>A. caudatus</i> <i>A. cruentus</i> <i>A. hypochondriacus</i>

El amaranto crece muy rápidamente, particularmente en condiciones de luz solar brillante y alta temperatura y cuando se siembra en suelo seco. La explicación fisiológica de este atributo es que el amaranto tiene la ruta fotosintética de CO<sub>2</sub> tipo C4. Las plantas del tipo C4 se caracterizan por su fotosíntesis más efectiva, un metabolismo de nitrógeno más intenso y algunas peculiaridades fisiológicas de sus procesos metabólicos. También convierten una proporción más alta de carbono atmosférico en carbohidratos que las plantas ordinarias, en las cuales la fotosíntesis sigue la clásica vía C3 (ciclo de Calvin). El amaranto es una planta anual de hoja ancha.

Las especies de Amaranto varían de ramificadas a no ramificadas, postradas a erectas y enanas a más de 4 m de altura. Las hojas son normalmente elípticas, con una punta aguda y una base cuneada. El tamaño de la hoja varía significativamente entre especies y dentro de ellas. Los propietarios son inflorescencias indefinidas. Las cabezas de las semillas, algunas de hasta 50 cm, se parecen a las del sorgo y son extremadamente pequeñas (*Zannini et al., 2013*).

#### 7.4.4. Zonas productoras y sistemas de producción de Amaranto

El cultivo del amaranto se realiza actualmente en pequeñas regiones de México, que han persistido a lo largo de los años. Las principales zonas productoras son: Tulyehualco, Ciudad de México; Amilcingo y Huazulco, Morelos e; San Miguel del Milagro, Cuapixtla, Tlaxcala; Huaquechula, Santiago Tecla, San Juan Amecac, Tochimilco y Tochimizolco, Puebla. Recientemente se han iniciado siembras en la zona de Tehuacán, Puebla, y en Guanajuato, Querétaro, Oaxaca y San Luis Potosí (*Espitia, 2016*).



**Figura 3.** Distribución geográfica del género *Amaranthus* en México (Espitia, et.al, 2010).

La especie *Amaranthus hypochondriacus* se distribuye principalmente en las regiones biogeográficas del eje volcánico transmexicano y Sierra Madre del Sur en los estados de Puebla, Estado de México, Tlaxcala, Oaxaca y Distrito Federal.



**Figura 4.** Distribución geográfica de *Amaranthus hypochondriacus* México (Espitia, et.al, 2010).

En México el cultivo del amaranto se realiza bajo tres formas, dependiendo de la región. Una forma es la siembra de trasplante, siguiendo la técnica ancestral de las chinampas, se realiza en Tulyehualco, Ciudad de México y pequeñas áreas aledañas. El chapín se produce en las chinampas y posteriormente, cuando llega la época de lluvias, se trasplanta al terreno definitivo, en el tehutli y otras serranías de la región. En este sistema el productor conserva muchas tradiciones ancestrales alrededor del cultivo y lo común es que se sientan orgullosos

de ser amaranteros y consideren un compromiso conservar este recurso para generaciones futuras.

La siembra directa se lleva a cabo en las regiones productoras convencionales de estado de México, Morelos, Puebla y Tlaxcala, así como en las demás regiones en la que se ha reportado su cultivo. Hay productores que labran la tierra con yuntas y siembran a mano, aunque algunos utilizan maquinaria para sus labores. La mayoría de los productores en este sistema tienen un gran orgullo de cultivar el amaranto y hay un gran misticismo alrededor de él, sobre todo con los productores de mayor edad.

El sistema intensivo se ha desarrollado recientemente. Incluye la siembra mecánica directa a altas densidades, fertilización del suelo y el follaje, la cosecha y la limpieza mecánica. Los productores de este sistema realmente no tienen una cultura desarrollada alrededor del amaranto (*Espitia, 2016*).

#### **7.4.4.1. Características de la semilla**

La semilla de ***Amaranthus hypochondriacus*** es casi esférica, de aproximadamente 0.9 a 1.7 mm de diámetro, 1000 semillas pesan de 0.5 a 1.2 g; aproximadamente, 1 g puede contener 850-1700 semillas. Ocurren en cantidades masivas, a veces más de 50 000 por planta, y varían en color de color crema, dorado, rosa, negro, marrón, amarillo o blanco. También tiene una composición única de proteínas, carbohidratos y lípidos. La estructura del grano de amaranto difiere significativamente de la de los cereales como el maíz y el trigo.

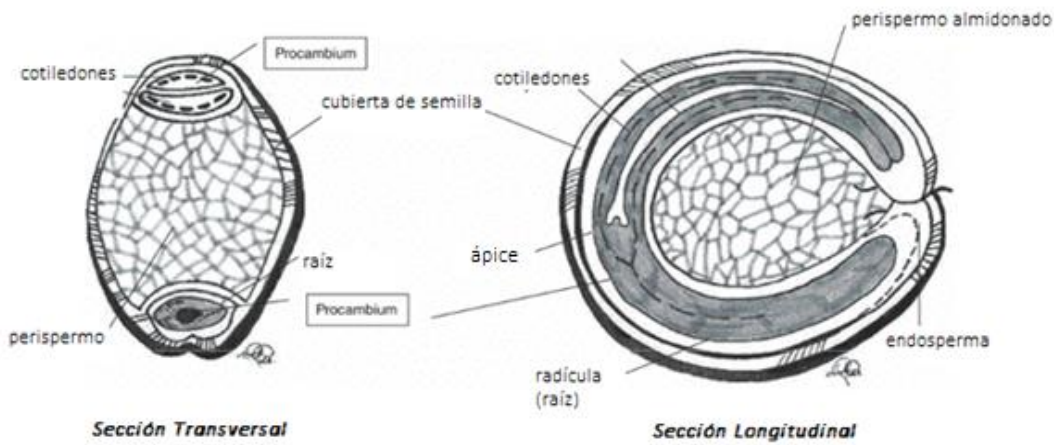


**Figura 5.** Semillas de ***Amaranthus hypochondriacus***

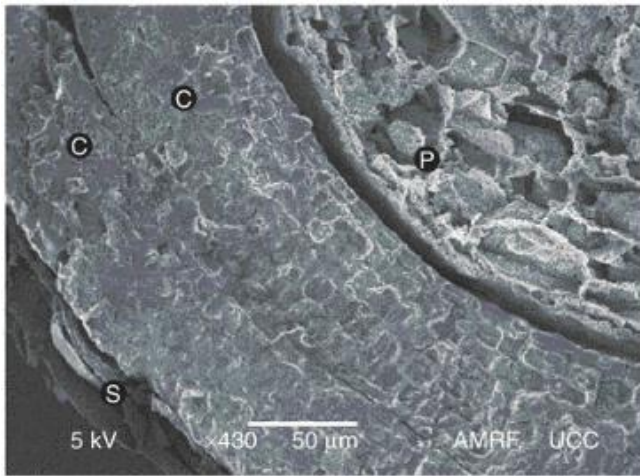
Las semillas de amaranto tienen un embrión o germen campilotrópico, es decir, de forma circular, con sus extremos casi tocando y rodeando el perispermo rico en almidón. Por lo tanto, el embrión es bastante grande y representa aproximadamente el 25% del peso del grano y, junto con la cubierta de la semilla, representa la fracción de salvado, que es relativamente rica en grasas y proteínas. La fracción de salvado es proporcionalmente mayor en las semillas de



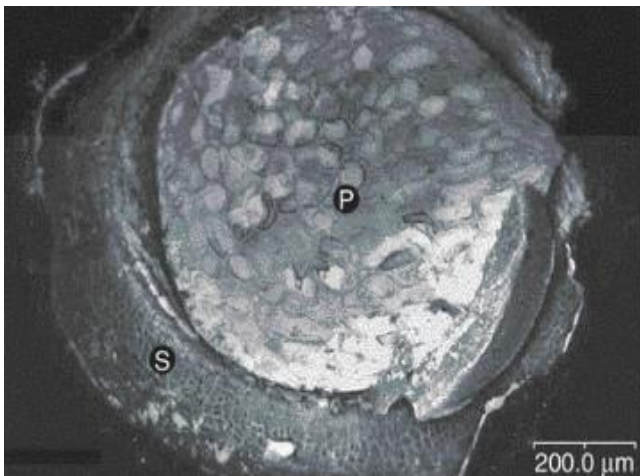
amaranto que en los cereales comunes, como el maíz y el trigo, que es el nivel más alto de proteína blanda y grasa presente en las semillas (FDA, 2006).



**Figura 6.** Ilustración de semilla de Amaranto, sección transversal y longitudinal.



**Figura 7.** Micrografía de microscopio láser de barrido confocal (10X) de la estructura del amaranto que muestra el perispermo amiláceo (P), parte de los dos cotiledones presentes (C) y la capa externa (S) (FDA, 2006).



**Figura 8.** Micrografía de microscopio láser de barrido confocal (10X) de la estructura del amaranto que muestra el perispema amiláceo (P) y la capa protectora (S) que encierra el perispermo (FDA, 2006).

#### 7.4.4.2. Composición de la semilla

La semilla de amaranto tiene aproximadamente de 62 a 65% de almidón, que está compuesto de amilosa y amilopectina. La amilosa es una molécula de cadena lineal, mientras que la amilopectina está altamente ramificada, y consiste en una cadena principal de  $\alpha$ -D-glucosa unida (1-4) junto con cadenas cortas de (1-6)  $\alpha$ -D- glucosa. El almidón de amaranto tiene un bajo contenido de amilosa, que varía entre 2 y 12%, según el genotipo de la especie. Su almidón tiene una temperatura de pegado y una temperatura de inicio de gelatinización de 69 a 72 y de 60 a 77 °C, respectivamente, lo que le atribuye una estructura resistente durante el calentamiento (FDA, 2006).

Tabla 2. Composición aproximada de semillas de *Amaranthus hypochondriacus* (% peso)

Carbohidratos	57.0%
Proteína cruda	17.9%
Grasa	7.7%
Fibra cruda	2.2%
Ceniza	4.1%
Humedad	11.1%

Las semillas de amaranto están enriquecidas con varios minerales, como calcio, fósforo, hierro, complejos de potasio, zinc, vitamina E y B. El amaranto es una rica fuente de polifenoles (flavonoides) con actividad antioxidante relativamente alta. Ácido cafeico, ácido p-hidroxibenzoico y ferulicacida es el principal compuesto fenólico de los granos maduros de *Amaranthus hypochondriacus* (Barba de la Rosa et al., 2009).

Se han estudiado las concentraciones de calcio, magnesio y cepas de 30 genotipos de *Amaranthus cruentus*, *Amaranthus híbrido* y *Amaranthus hypochondriacus* (Gélinas et al., 2007).

Aunque el grano de amaranto contiene lípidos más altos que la mayoría de los cereales, la composición de su aceite es bastante similar a la de los cereales, siendo alta en ácidos grasos insaturados (aproximadamente 77%). El aceite de amaranto contiene principalmente ácido

linoleico, pero también tocotrienoles, que están asociados con la actividad reductora del colesterol en los sistemas de mamíferos.

El aceite de grano de amaranto contiene una cantidad significativa (hasta 8%) de Escualeno, que tiene importantes efectos beneficiosos directos o indirectos sobre la salud y también es un ingrediente importante en cosméticos. Por lo tanto, el aceite de amaranto tiene el potencial de reemplazar otras fuentes de Escualeno como el tiburón y la ballena, que son especies en peligro de extinción (FDA, 2006).

#### 7.4.5. Aplicaciones alimentarias



**Figura 9.** Alegrías de amaranto, dulce típico de México.

Se ha sugerido que el tamaño y la composición de los gránulos de almidón pequeños, en la semilla de amaranto, son responsables de la gelatinización única y de las características de congelación / descongelación que podrían ser explotadas por la industria alimentaria para desarrollar diversos productos. El almidón de amaranto se puede usar en muchas preparaciones alimenticias, como natillas, pastas y ensaladas.

Estudios arqueobotánicos a nivel mundial indican que el *Amaranthus hypochondriacus* se cultivaba desde el tiempo de los aztecas, actualmente se sigue cultivando y se encuentra ampliamente distribuida en México; también se cultiva en los Himalayas, en Nepal, y en el sur de la India, donde se han formado centros secundarios de diversificación (Espitia et. al, 2010).

La harina de amaranto se usa como salchichas, sopas y guisados, carece de proteínas de gluten presentes en el trigo; por lo tanto, no es adecuado para hacer pan. Se mezcla con harina de trigo / harina en la preparación de pan plano sin levadura conocido como chapattis



en India y tortillas en América Latina. La harina de amaranto también se usa en la preparación de galletas, muffins, panqueques, pastas, panes planos, productos extruidos, etc. En la India el amaranto es conocido como Thotakura, los granos se usan más comúnmente en forma de dulces conocidos como laddoos y para atole y alegría (mezcla de granos de amaranto tostados con jarabe) en México (FDA, 2006).



**Figura 10.** Calaveras de amaranto, dulce tradicional de San Sebastián Tulyehualco.

Debido a la promoción que ha recibido el amaranto en los últimos años, se han realizado muchos estudios sobre sus propiedades, usos potenciales y sobre cuáles son las formas recomendadas para consumirlo. El amaranto presenta dos tipos de almidón: aglutinante y no aglutinante. El primero es el más adecuado para la industria panadera y es el que presentan algunos cereales como arroz, maíz, cebada, sorgo y mijo, sin embargo, también puede ser utilizado en otros productos panificados que no requieren expansión, ya que carece de gluten.

En comparación con el grano de amaranto, el amaranto vegetal ha recibido menos atención por parte de los investigadores. El amaranto vegetal se usa como un manjar o alimento básico en muchas áreas del mundo. Las hojas de amaranto se usan como verdura en los estados del norte de la India. El amaranto vegetal tiene mejor sabor que las espinacas y es sustancialmente más alto en calcio, hierro y fósforo.

El grano de amaranto es una buena fuente de fibra dietética y tiene un alto índice glucémico. Es bajo en almidón resistente, y su almidón tiene gránulos únicos pequeños con una baja tendencia hacia degradación.

El grano de amaranto tiene un mayor contenido de proteínas que la mayoría de los granos de cereales y es un alimento apropiado para las personas alérgicas al gluten.

El aceite de grano de amaranto es bastante similar al de los cereales, tiene un alto contenido de ácidos grasos insaturados y contiene principalmente ácido linoleico. El aceite de grano de amaranto contiene una cantidad significativa de Escualeno.

Las proteínas de grano de amaranto están compuestas principalmente por tres fracciones: albúminas, globulinas y glutelinas con poca o ninguna prolamina de almacenamiento. La amarantina es el componente más importante de las globulinas y constituye el 90% de las globulinas totales y aproximadamente el 19% de la proteína total del grano.

El grano de amaranto tiene el potencial de ser utilizado en el desarrollo de varios productos alimenticios para personas que padecen enfermedad celíaca, un trastorno que hace que el cuerpo sea intolerante a las proteínas del gluten (*FDA, 2006*).

#### **7.4.6. Uso Terapéutico**

El amaranto puede aportar vitaminas E y B, puede ser una fuente importante de niacina para la producción de hormonas sexuales, del crecimiento y del metabolismo, y lisina para la producción de anticuerpos, hormonas y enzimas, así como de fósforo para la formación de hueso, la función renal y aporta magnesio, para el metabolismo del azúcar en sangre y relajante del músculo liso, y puede servir como ayuda a la curación de herpes (*Rastogi et. al, 2013*).

#### **7.4.7. Otros usos**

El amaranto también es utilizado para engrosar polvos de limpieza y aerosoles. Por otra parte, el aceite de amaranto no es particularmente único, es muy similar en su composición al del algodón y al de maíz. Sin embargo, en estudios recientes se ha encontrado un contenido relativamente alto de Escualeno (aproximadamente de 7 a 8% del aceite de la semilla). Esta sustancia es un importante ingrediente en la industria cosmética, como lubricante de máquinas, y precursor de esteroides. Se obtiene comúnmente de animales como la ballena y el tiburón, y son Japón y Noruega los principales países productores que controlan el mercado.

Entre otras aplicaciones no alimentarias, es empleado como cosméticos, películas biodegradables, recubrimientos de papel y almidón para ropa (*Espitia-Rangel, 2012*).

#### 7.4.8. Metabolitos secundarios

##### 7.4.8.1. Cumarinas

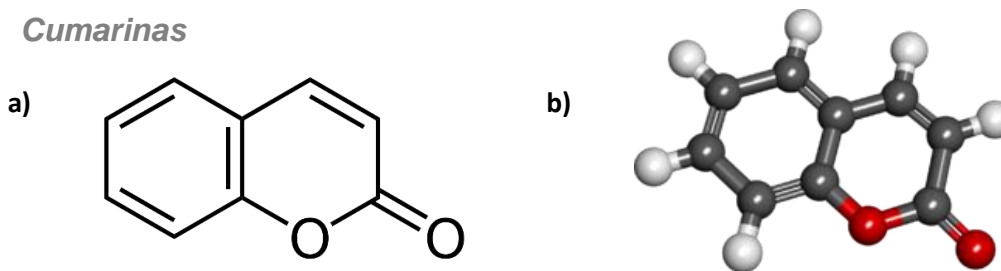


Figura 11 a) b). Estructura química de cumarina

La cumarina es un heterociclo que consiste en la fusión de anillos de benceno y  $\alpha$ -pirona. La cumarina también es un miembro de la familia de los flavonoides que están asociados con baja toxicidad. Aunque los derivados de cumarina que se producen naturalmente se han usado ampliamente, se pueden sintetizar miles de compuestos de cumarina en el laboratorio; están ampliamente distribuidas en la naturaleza y atraen mucha atención debido a su valiosa actividad biológica que incluye la inhibición antioxidante, antimicrobiana, antitumoral, antitubercular, monoamina oxidasa B (MAO-B) y actividades antivirales (*Bhagat et al., 2019*). Además, como un cromóforo útil, la cumarina se ha aplicado para diseñar nuevos compuestos con potencial interés óptico, como sondas fluorescentes (*Tasior et al., 2014*).

##### 7.4.8.2. Saponinas

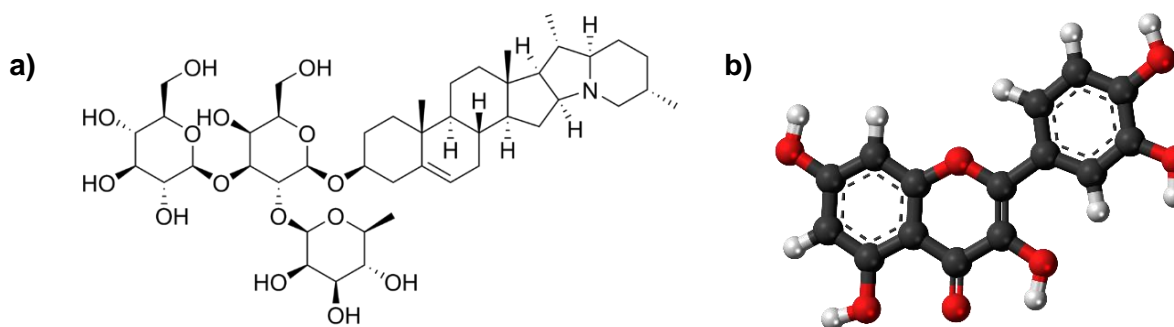


Figura 12 a) b). Estructura química de saponina

Las saponinas son un grupo de tensoactivos de origen natural que pertenecen a los derivados glucósidos de esteroides o triterpenos policíclicos. Se encuentran comúnmente como metabolitos secundarios en muchas especies de plantas y algunas especies de animales e insectos marinos.

Debido a las propiedades inusuales de las saponinas, han encontrado una amplia aplicación en diversas industrias como la alimenticia y cosmética, así como aditivos para la alimentación animal y para la protección de las plantas en la agricultura. También se pueden utilizar con éxito para la protección del medio ambiente, tanto en las técnicas de lixiviación de la contaminación del suelo como en la biodegradación de hidrocarburos soportados por tensoactivos.

Actualmente tienen aplicación terapéutica contra el cáncer y para la prevención de enfermedades cardiovasculares. Los usos potenciales de estos compuestos en medicina y farmacia también se examinan. Sin embargo, la aplicación de saponinas en los procesos en los que se requiere de humectabilidad, juega un papel muy importante. Algunos autores sugieren que las saponinas son los buenos agentes humectantes, sin embargo, la literatura sobre las propiedades humectantes de las saponinas es bastante escasa (Rekiel, et. al, 2019).

#### 7.4.8.3. Terpenos

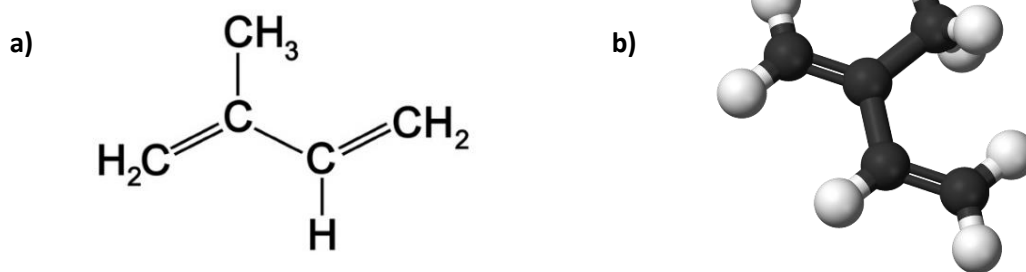


Figura 13 a) b). Estructura química de terpeno

Los terpenos cubren una amplia cantidad de sustancias de origen vegetal, son la clase más grande de metabolitos de plantas que tienen diversos roles en las interacciones planta-polinizador, en defensa contra patógenos y herbívoros, y en protección contra el estrés ambiental.

Los terpenos están formados por la unión de hidrocarburos de 5 átomos de carbono, conocidos como isoprenos. Los compuestos más pequeños y volátiles son los monoterpenos, que se biosintetizan mediante la unión de dos moléculas de isopreno. Los más grandes y los

menos volátiles son biosintetizados por la unión de tres o más moléculas de isopreno. Los sesquiterpenos son los siguientes en la cadena, que se forman por la unión de tres moléculas de isopreno.

Los terpenos son metabolitos secundarios, que proporcionan a la planta sus características organolépticas (aroma y sabor) y que constituyen la mayor parte del aceite esencial producido por las plantas aromáticas.

Los terpenos se encuentran principalmente como componentes de aceites esenciales, en su mayoría son hidrocarburos. Los terpenos de las plantas medicinales tienen la competencia, dentro de lo que podría denominarse una "dosis protectora de ventana", para proteger a las neuronas contra la privación de péptido  $\beta$ -amiloide glutamato, oxígeno y glucosa y otros estímulos tóxicos al dificultar la apoptosis al atacar numerosas quinasas, aumentando la eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y protegiendo la integridad mitocondrial (Booth et. al, 2019).

#### 7.4.8.4. Flavonoides

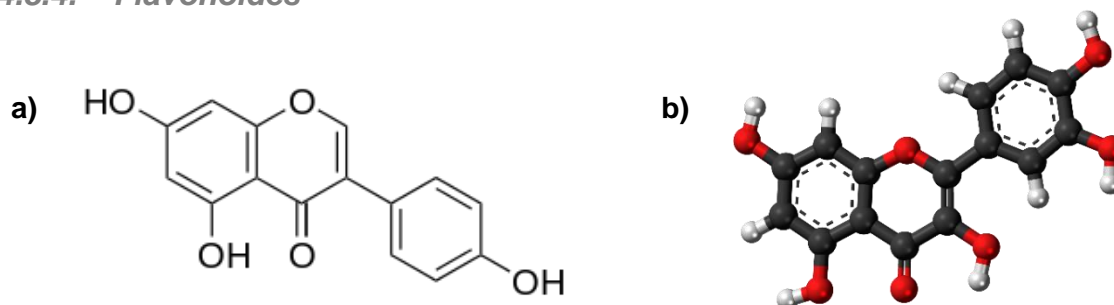
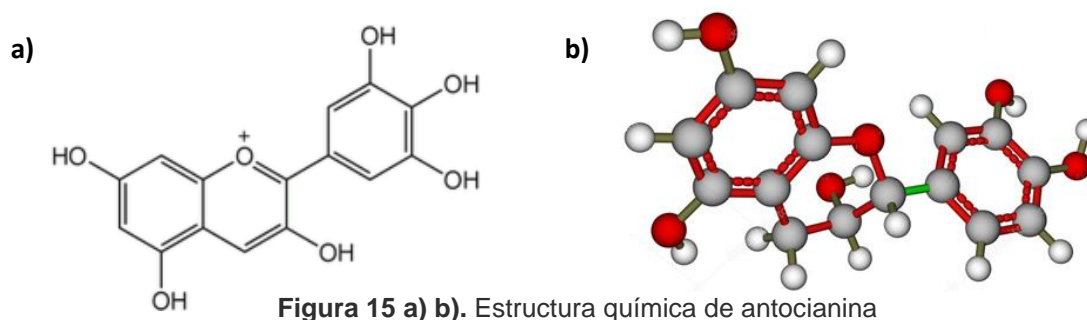


Figura 14 a) b). Estructura química de flavonoide

Los flavonoides son metabolitos secundarios importantes que se encuentran en una amplia variedad de plantas. Se ha confirmado que los flavonoides están involucrados en muchas funciones fisiológicas importantes de las plantas, como la germinación de semillas, la defensa contra la radiación UV y la supresión de microorganismos patógenos. Además de estas funciones fisiológicas que son beneficiosas para la planta misma, los compuestos flavonoides también tienen muchas funciones beneficiosas para la salud humana, como aumentar la inmunidad humana y la actividad antioxidante. Según las diferencias estructurales, los flavonoides se pueden dividir en seis tipos principales, que incluyen chalcona, flavonas, flavonoles, flavandioles, antocianinas y proantocianidinas o taninos condensados, así como otros derivados como las isoflavonas (Yuan et. al., 2019).

#### 7.4.8.5. Antocianinas



Las antocianinas son un tipo natural importante de pigmento flavonoide soluble en agua que se distribuye ampliamente en varias plantas y son responsables de los colores rojo, morado y azul de los diferentes órganos, como raíces, tallos, hojas, flores, frutas y semillas, de diferentes plantas. Además de sus atributos de color, las antocianinas también exhiben una gama de actividades biológicas únicas, que incluyen actividades antioxidantes, antitumorales y antiinflamatorias. En consecuencia, estos compuestos han atraído una atención considerable y han sido el foco de muchos estudios (Yang *et. al.*, 2017).

#### 7.4.8.6. Quinonas

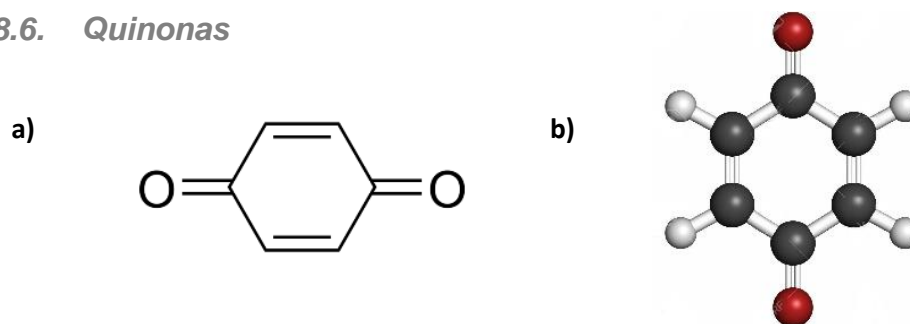


Figura 16 a) b). Estructura química de quinona

Cualquier miembro de una clase de compuestos orgánicos cíclicos que contienen dos grupos carbonilo,  $>C=O$ , adyacentes o separados por un grupo vinileno, " $CH=CH$ ", en un anillo insaturado de seis miembros. En algunas quinonas, los grupos carbonilo están ubicados en diferentes anillos. El término quinona también denota el compuesto específico *para* - (*p*-) benzoquinona ( $C_6H_4O_2$ ). La estructura de quinona juega un papel importante en las teorías sobre la relación de la constitución química con el color. Las quinonas se producen como pigmentos biológicos (biocromos), por ejemplo, incluidas las benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas y quinonas policíclicas.

Las quinonas se encuentran en bacterias, en ciertos hongos y en varias formas de plantas superiores, pero solo en unos pocos animales. Aquellos animales en los que se encuentran,

por ejemplo, erizos de mar, pulgones, insectos lac y cierto-s insectos con escamas, obtienen sus compuestos de quinona de las plantas que comen. Las vitaminas K son naftoquinonas, al igual que algunos indicadores químicos de acidez o alcalinidad y varios tintes utilizados para colorear ciertos tipos de telas (Adam et.al., 2019).

#### 7.4.8.7. Taninos

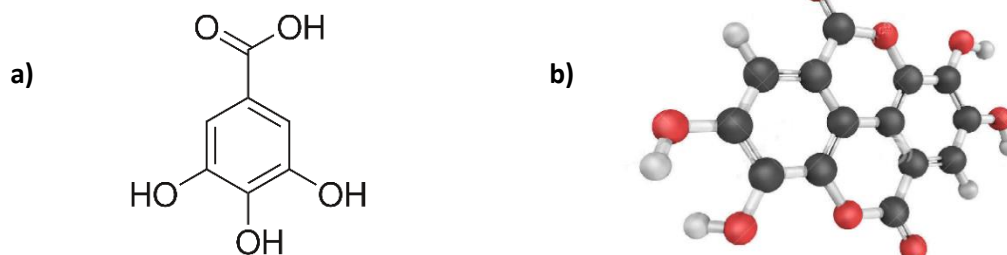


Figura 17 a) b). Estructura química de tanino

Los taninos son una gran categoría de compuestos que tienen características antioxidantes y astringentes que los hacen útiles para productos farmacológicos debido a sus actividades antitumorales, antisépticas, antiinflamatorias, cardiovasculares y cardioprotectoras; también tienen aplicación en la industria cosmética; se pueden agregar taninos al vino para obtener mejores propiedades organolépticas; los metales pesados se pueden adsorber de las soluciones acuosas de taninos, lo que ayuda a reducir los riesgos para el suelo, el agua y el aire; también, durante mucho tiempo, los taninos se usaron para el cuero con el fin de mejorar su vida útil. Finalmente, los taninos pueden emplearse activamente para un reemplazo parcial de fenol en resina fenólica de base biológica para preparaciones de espuma y adhesivos más ecológicos (Aires et al., 2016).

#### 7.4.8.8. Alcaloides

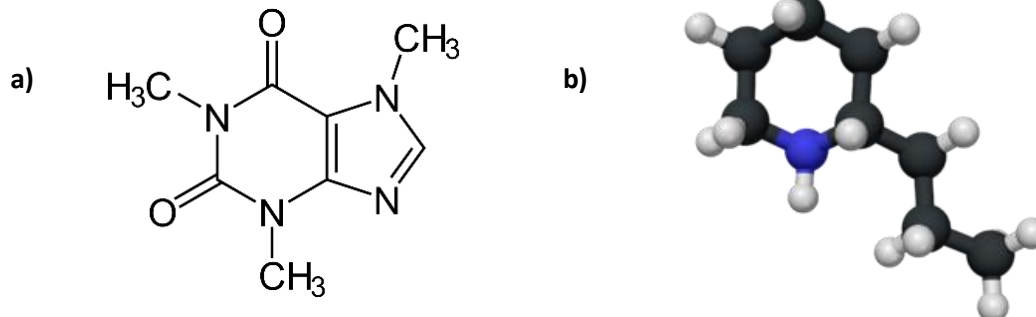


Figura 18 a) b). Estructura química de alcaloide

Los alcaloides representan una amplia variedad de estructuras químicas. Se conocen más de 16 000 y la mayoría deriva de plantas superiores. Los alcaloides también se han aislado de



microorganismos, organismos marinos como algas, dinoflagelados y peces globo y animales terrestres como insectos, salamandras y sapos.

Los alcaloides están presentes en los tejidos vegetales como sales solubles en agua de ácidos orgánicos (ácidos tartárico, acético, oxálico, cítrico, málico y láctico), ésteres (como atropina, escopolamina, cocaína, aconitina) o combinados con taninos (corteza de Cinchona) o azúcares (glicoalcaloides de las especies de Solanum).

Como metabolitos secundarios, los alcaloides probablemente juegan un papel en la defensa de los organismos contra plagas y enfermedades, por ejemplo, para algunos tipos de alcaloides, se ha establecido la actividad antifederante de insectos, por lo tanto, muchos alcaloides tienen fuertes actividades biológicas.

El efecto de los alcaloides en los humanos puede explicarse por las relaciones estructurales con importantes compuestos de señal (neurotransmisores) como la dopamina, acetilcolina, noradrenalina y serotonina. En consecuencia, algunos alcaloides se usan como medicamentos o en estudios farmacológicos, además de los compuestos puros, se utilizan extractos de plantas crudas que contienen alcaloides (fitoterapia). Otra área donde los alcaloides juegan un papel importante es en las drogas de abuso, por ejemplo, la mescalina, cocaína, morfina y su derivado semisintético, la heroína. Los alcaloides también son de interés en el análisis de dopaje (estricnina, efedrina y cafeína) y venenos (estricnina, alcaloides de pirrolizidina, conina, nicotina, aconitina y tetrodotoxina) (*Kukula-Koch et. al., 2017*).

### **7.5. Etnofarmacología**

La Etnofarmacología es una ciencia interdisciplinaria, ya que abarca las observaciones en campo, así como también la descripción del uso y preparación de los remedios con plantas medicinales, la determinación botánica del material obtenido, también engloba los estudios fitoquímicos que son muy importantes para aislar los compuestos presentes en las plantas, así como los estudios farmacológicos.

Esta ciencia ha tomado una gran relevancia en los últimos años, ya que varias compañías farmacéuticas están interesadas en las plantas y su potencial para obtener agentes terapéuticos que ayuden al tratamiento de algunas enfermedades de gran prevalencia entre la población.





**Figura 19.** Detalle del mural "El pueblo demanda salud" de Diego Rivera y David Alfaro Siqueiros.

## 7.6. Farmacognosia

La farmacognosia es el estudio sobre las implicaciones físicas, químicas, bioquímicas y biológicas de los productos naturales con fines medicinales o beneficiosos para la salud. Específicamente, abarca el estudio de metabolitos secundarios, incluidos alcaloides, glucósidos, compuestos fenólicos, taninos, fitoesteroles y terpenoides.

El continuo interés en este campo ha llevado a la aparición de muchos campos de estudio aliados, como productos naturales, farmacología, biomedicina, espectrometría y biotecnología. En la actualidad, la búsqueda de componentes bioactivos de los recursos naturales (plantas, animales y microorganismos) con interesantes y novedosos mecanismos de acción.

Los mecanismos de acción de dichos compuestos se han convertido en uno de los esfuerzos más activamente perseguidos en los programas de descubrimiento de drogas realizados por muchas instituciones; tienen posibles aplicaciones medicinales para la prevención y el tratamiento de numerosas afecciones y enfermedades como "principios activos" que se utilizan para la formulación de medicamentos más potentes, selectivos y seguros.

Como resultado de estos esfuerzos, se ha logrado un gran progreso en metodologías e instrumentos para el aislamiento, la purificación y la caracterización molecular, por lo que se ha identificado una enorme cantidad de entidades moleculares naturales (*Lajis et. al., 2017*).

La extensa biodiversidad de la naturaleza es un recurso en gran parte sin explotar de compuestos que pueden tener potentes actividades medicinales y se seleccionan evolutivamente por su permeabilidad celular intrínseca, diversidad de andamios y especificidad de objetivo.

### 7.7. Extractos naturales

Los extractos naturales pueden obtenerse en una gran cantidad de materiales vegetales e incluyen metabolitos primarios y secundarios como proteínas, grasas y aceites, fibras dietéticas, azúcares, antioxidantes, aceites esenciales y tinturas. Se utilizan en gran medida como ingredientes en la industria de procesamiento de alimentos por sus propiedades de texturizado, conservantes o colorantes, y como compuestos activos en cosméticos o productos farmacéuticos (*Chemat, 2019*).

El consumo de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) ha aumentado el interés de muchos investigadores en este cultivo. El extracto oleoso de amaranto está constituido principalmente por ácidos grasos y, en concentraciones menores, por materia insaponificable como el Escualeno.

### 7.8. Métodos de Extracción

Convencionalmente, los extractos naturales se obtienen mediante extracción sólido-líquido considerada como una operación unitaria. El proceso de extracción se compone de varias operaciones unitarias, como el tratamiento previo del material vegetal (por ejemplo, secado y trituración) y el tratamiento posterior del extracto líquido (filtración, concentración, purificación, etc.). En el proceso de extracción de sólidos y líquidos se emplea agua o solventes de petróleo.

### 7.9. Extracción por Soxhlet

El sistema de extracción Soxhlet fue inventado por Franz von Soxhlet en 1879. El método Soxhlet se define como una extracción continua sólido-líquido que tiene como fundamento el transporte de un analito de una matriz, para la extracción de lípidos principalmente, provenientes de un material sólido. En el caso de los compuestos orgánicos la afinidad depende de la polaridad de éstos, dicha información es útil para seleccionar el solvente que se utilizará en la extracción, el disolvente suele tener unas características químicas y estructurales similares a las del compuesto a extraer. También debe de considerarse el punto

de ebullición del solvente para definir las condiciones de operación del sistema (Martínez-Chávez et. al, 2017).

El método de extracción de aceite Soxhlet proporciona una gran cantidad de aceite en comparación con otros métodos. En este procedimiento la muestra sólida y pulverizada se coloca dentro de un cartucho de material poroso que se sitúa en la cámara del extracto Soxhlet. El disolvente extractante que se encuentra en el matraz, se calienta, se condensan sus vapores cayendo gota a gota sobre el cartucho que contiene la muestra, extrayendo así, los analitos solubles. Cuando el nivel del disolvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral, el disolvente, con los analitos disueltos, asciende por el sifón y retorna al matraz de ebullición.

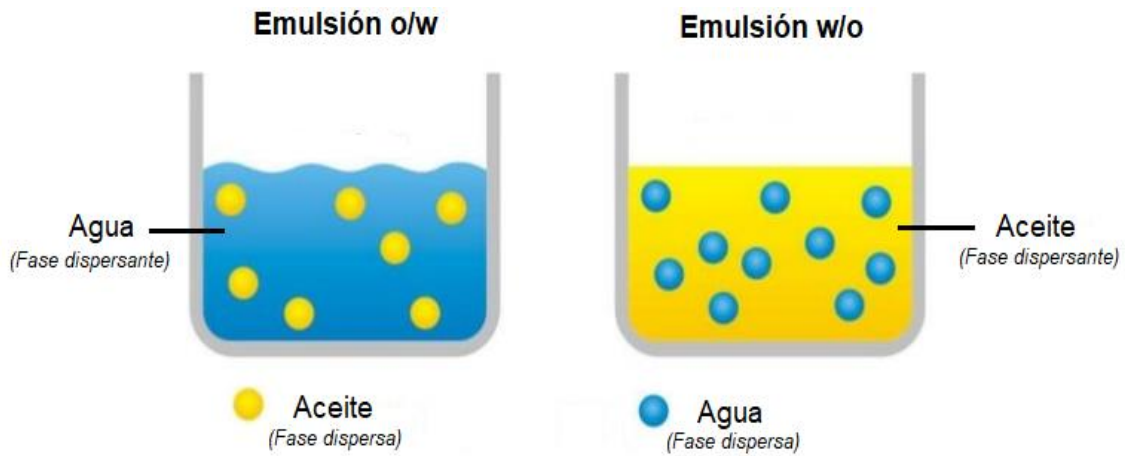
Este proceso se repita hasta completar la extracción de los analitos de la muestra y se concentran en el disolvente. Es necesaria una etapa final de evaporación del disolvente para la concentración de los analitos.

**Figura 20.** Representación esquemática del sistema de extracción Soxhlet.



## 7.10. Emulsión

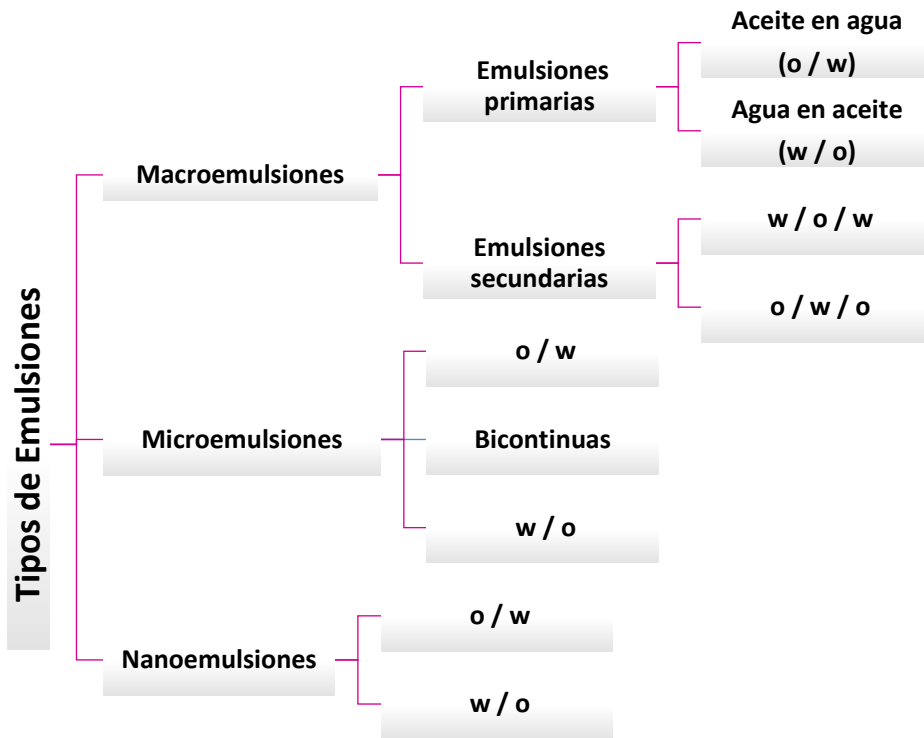
Sistema heterogéneo, generalmente constituido de dos líquidos no miscibles entre sí; en el que la fase dispersa está compuesta de pequeños glóbulos distribuidos en el vehículo en el cual son inmiscibles. La fase dispersa se conoce también como interna y el medio de dispersión se conoce como fase externa o continua. Existen emulsiones del tipo agua/aceite o aceite/ agua y se pueden presentar como semisólidos o líquidos. El o los fármacos y aditivos pueden estar en cualquiera de las fases. Vía de administración: oral, tópica, parenteral, cutánea. Consideraciones de uso: inyectable (FEUM,2019).



**Figura 21.** Emulsiones o/w: gotas de aceite (fase dispersa) en agua (fase dispersante). Emulsiones w/o: Gotas de agua (fase dispersa) en aceite (fase dispersante).

### 7.10.1. Tipos de Emulsiones

Los tipos de emulsión se pueden agrupar de la siguiente manera:



**Figura 22.** Diagrama de clasificación de los tipos de emulsiones.

Las **macroemulsiones** no son estables termodinámicamente. Estas emulsiones son típicamente polidispersados, su diámetro de gota es variado, por lo general oscila entre 1 y 100  $\mu\text{m}$ .

Las **microemulsiones**, Son dispersiones termodinámicamente estables, aparentemente homogéneas de agua en aceite (w / o) o aceite en agua (o / w). Estos sistemas isotrópicos solubilizados pueden formarse en presencia de surfactantes, a veces también se requiere la presencia de un cosurfactante. Las microemulsiones son líquidos y se comportan como un líquido newtoniano, por lo que tienen baja viscosidad. Sin embargo, recientemente puede observarse una preferencia cada vez mayor por los geles basados en microemulsiones que pueden contener un agente potenciador de la viscosidad. Estos sistemas de mayor viscosidad son más adecuados para administración tópica ya que mejoran la absorción y biodisponibilidad de diversos compuestos.

Las **nanoemulsiones**, son emulsiones con el tamaño de gota nanométrica (normalmente en el rango de 20 a 200 nm) son sistemas transparentes o translúcidos. La causa de la confusión es su estabilidad física a largo plazo sin aparente floculación y coalescencia. La atracción de las nanoemulsiones para la aplicación en diferentes campos se debe a que no producen sedimentación en el almacenamiento (debido a la fuerza de gravedad reducida y al movimiento browniano de las pequeñas gotas); el tamaño de las gotas también evitan cualquier floculación; no hay coalescencia porque las gotitas no son deformables y, por lo tanto, se evita la fluctuación de la superficie, y la película de agente tensioactivo relativamente gruesa evita que se adelgace o se rompa la película líquida entre las gotitas; la gran área superficial y las pequeñas gotas mejoran la penetración de los activos; agradable carácter estético y buena sensación en la piel.

Se utilizan ampliamente en productos farmacéuticos, cosméticos y también desempeñan un papel importante en la síntesis de dispersiones de polímeros y nanopartículas.

#### **7.10.1.1. Emulsión w/o**

Las emulsiones de aceite en agua se han utilizado ampliamente en varios dominios como las industrias de alimentos, farmacéutica, cosmética y pintura debido a su capacidad para transportar o solubilizar componentes hidrófobos en una fase continua de agua (*Budai-Szucs, 2008*).

#### **7.10.2. Características**

La vida útil de la mayoría de las formas de dosificación farmacéutica es de 3 a 5 años aproximadamente, por lo tanto, la tarea más importante es desarrollar nuevas emulsiones estables a largo plazo. Esto solo puede lograrse mediante el control adecuado de los procesos

de inestabilidad, lo que a menudo es desafiante ya que la inestabilidad de la emulsión es un proceso complejo y puede involucrar una combinación de diferentes mecanismos (formación de crema o sedimentación, floculación y coalescencia).

Las emulsiones no son termodinámicamente estables; el estado estable de una emulsión es la forma de sus fases en capas separadas por interfaces. Se sabe que varios procesos conducen a la destrucción de la estructura de la emulsión, tales como: floculación, creaming/ sedimentación, coalescencia e inversión de fases.

La **floculación** es la agregación de pequeñas gotas debido a la atracción de van der Waals cuando no hay suficiente repulsión entre las micelas (gotas). La floculación puede reducirse o eliminarse, mediante una barrera de energía entre las micelas, que puede ser una doble capa eléctrica (por ejemplo, mediante un tensoactivo iónico) o una capa no eléctrica (por tensoactivos o polímeros no iónicos).

**Creaming o sedimentación** es la separación causada por el movimiento hacia arriba o hacia abajo de las gotas de emulsión con una densidad más baja o más alta que la fase continua. La tasa de creación o sedimentación puede ser descrita por la ley de Stoke. En el caso de un concentrado.

En emulsión, la tasa de formación de crema o sedimentación es más baja que la predicha por la ley de Stoke debido a los movimientos limitados de las gotas. El método más común para reducir la formación de crema o la sedimentación es usar espesantes, agentes que aumentan la viscosidad.

La **coalescencia**, donde las micelas de fase dispersa se fusionan para formar micelas más grandes, forman dos fases distintas: adelgazamiento de la película líquida entre las gotitas y su ruptura. Un caso especial de coalescencia es la coalescencia parcial. La coalescencia parcial se produce entre gotitas parcialmente cristalinas cuando los cristales de una gotita penetran en una segunda gotita. Durante este estado, cada gota conserva su identidad individual (como en la floculación), pero hay un contacto molecular entre sus contenidos (como en la coalescencia). Sobre el punto de fusión, la red cristalina se destruye y las gotitas parcialmente fusionadas se unirán.

La **maduración de Ostwald** se produce cuando hay una miscibilidad significativa entre la fase de aceite y agua. La distribución del tamaño de las gotitas también cambia debido a la difusión molecular de gotitas pequeñas a más grandes debido a la diferencia en la presión de Laplace.

La **inversión de fase** es un proceso mediante el cual un cambio en la energía libre de una emulsión O / W hace que se invierta en una emulsión W / O o viceversa (Guojun et al., 2014).

## 8. Metodología



**Figura 23.** Diagrama de flujo de metodología de obtención del producto farmacéutico

### 8.1. Metodología Botánica

#### 8.1.1. Recolección de muestras para obtención de productos químicos

Las muestras de semilla de *Amaranthus hypochondriacus* se obtuvieron del poblado de Tulyehualco, ubicado en la delegación de Xochimilco, Ciudad de México.

### 8.1.2. Tratamiento de la Planta

Las semillas de ***Amaranthus hypochondriacus*** se tamizaron para eliminar los residuos de tierra y luego se trituraron utilizando un mortero con pistilo de porcelana y se almacenaron en un recipiente hermético antes de someterlas al proceso de extracción.

## 8.2. Metodología de Preparación del Extracto

### 8.2.1. Extracción por Soxhlet

#### 8.2.1.1. Extracción por Soxhlet con Hexano

El hexano es típicamente el solvente utilizado para extracciones a gran escala debido a su costo relativamente bajo y alta eficiencia de extracción. Se pesaron 30 g de muestra triturada de ***Amaranthus Hypochondriacus*** y se colocaron dentro de un cartucho de papel filtro, el cual fue introducido en el tubo Soxhlet. Se agregaron 250 mL de Hexano a un matraz de destilación. Se utilizó un reóstato como regulador durante la extracción, con el mismo disolvente durante un tiempo de extracción durante 4 h.

Una vez alcanzado el tiempo de extracción (4 h), la solución de extracto se dejó enfriar a temperatura ambiente. Luego, se filtró a través de papel filtro con un embudo Buchner y se concentró a sequedad utilizando un rotavapor.

#### 8.2.1.2. Extracción por Soxhlet con mezcla Hidroalcohólica

Se pesaron 30 g de muestra triturada de ***Amaranthus hypochondriacus*** y se colocaron dentro de un cartucho de papel filtro, el cual fue introducido en el tubo Soxhlet. Se agregaron 200 mL de Etanol y 50 mL de agua desionizada a un matraz de destilación. Se utilizó un reóstato como regulador durante la extracción, con el mismo disolvente durante un tiempo de extracción durante 4 h.

Una vez alcanzado el tiempo de extracción (4 h), la solución de extracto se dejó enfriar a temperatura ambiente. Luego, se filtró a través de papel filtro con un embudo Buchner y se concentró a sequedad utilizando un rotavapor.

#### 8.2.1.3. Extracción por Soxhlet con Éter etílico

Se pesaron 30 g de muestra triturada de ***Amaranthus hypochondriacus*** y se colocó un cartucho de papel filtro, el cual fue introducido en el tubo Soxhlet. Se agregaron 250 mL de Éter etílico a un matraz de destilación. Se usó un reóstato como regulador durante la extracción, con el mismo disolvente.



Una vez alcanzado el tiempo de extracción (4 h), la solución de extracto se dejó enfriar a temperatura ambiente. Luego, se filtró a través de papel filtro con un embudo Buchner y se concentró a sequedad utilizando un rotavapor.

### 8.2.2. Ensayos de identidad

Los ensayos de identidad están destinados a verificar la identidad de la sustancia. En general se reconoce que el espectro IR constituye el mejor medio de identificación por la claridad con que se caracteriza a una determinada sustancia o material. Cuando no es posible recurrir a la espectrofotometría de absorción infrarroja, la cromatografía en capa delgada o la cromatografía de líquidos de alta resolución son también medios de identificación. Por lo tanto, un ensayo de identidad por infrarrojo o por cromatografía no es suficiente para identificar a la sustancia o material. Cuando no se pueda recurrir a estas metodologías, se deberán realizar al menos dos de otros ensayos de identidad, en correlación para considerar identificada la sustancia o material (FHEUM, 2013).

#### 8.2.2.1. Tamizaje fitoquímico

##### 8.2.2.1.1. Identificación de Cumarinas

En un tubo de ensayo se colocó 1 g de semilla de ***Amaranthus hypochondriacus*** y se agregó una cantidad suficiente de etanol comercial que cubriera la muestra. Se cubrió la boca del tubo de ensayo con papel filtro blanco y se sujetó con unas pinzas para tubo de ensayo. Se agregaron unas gotas de NaOH diluido en el papel filtro que cubre la boca del tubo de ensayo. Se calentó hasta ebullición por 5 minutos, se dejó enfriar y se retiró el papel filtro. Se dejó secar el papel a temperatura ambiente y se observó debajo de una lámpara de UV.

*Especificación:* La prueba se considera positiva si bajo la luz UV, se aprecia fluorescencia amarilla en el papel.

##### 8.2.2.1.2. Identificación de Saponinas

Con un mortero se trituraron 10 g de semilla de ***Amaranthus hypochondriacus***, se trasvasaron a un matraz Erlenmeyer de 100 mL, se agregó agua y se filtró. En un tubo de ensayo, se vaciaron 4 mL de filtrado acuoso y se agitaron vigorosamente durante dos minutos continuos.

*Especificación:* La prueba se considera positiva si en el tubo se observa la formación de espuma con apariencia de panal de abeja.

#### 8.2.2.1.3. Identificación de Triterpenos

En un mortero se pulverizaron 10 gramos de semilla de ***Amaranthus hypochondriacus*** y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se agregó un volumen suficiente de cloroformo o diclorometano para cubrir la muestra, la mezcla se sometió a agitación y se filtró. En un tubo de ensayo, se colocó 1 mL de filtrado orgánico y se añadió 1 mL de Anhídrido acético. Por la pared del tubo, se agregaron de 1 a 2 gotas de Ácido sulfúrico concentrado.

*Especificación:* La prueba se considera positiva si al agregar Ácido sulfúrico concentrado se observan la aparición de colores rojo, rosa, verde, púrpura o azul en la interfase.

#### 8.2.2.1.4. Identificación de Flavonoides

En un mortero se pulverizaron 10 gramos de semilla de ***Amaranthus hypochondriacus*** y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 100 mL, se agregó agua suficiente para cubrir la muestra y se filtró. Se colocaron varias limaduras de magnesio en un tubo de ensayo y se agregaron 2 mL del filtrado y por la pared del tubo, gota a gota se agregaron varias gotas de Ácido clorhídrico concentrado.

*Especificación:* La prueba se considera positiva si se observa la aparición de coloraciones del rojo púrpura al rojo cereza, rosa o café.

#### 8.2.2.1.5. Identificación de Antocianinas

En un Erlenmeyer se colocaron 100 g de semilla de ***Amaranthus hypochondriacus*** y se agregaron 200 mL de agua. Se calentó a ebullición durante unos 5 minutos y se filtró. Se colocaron 5 mL del filtrado en varios tubos de ensayo y se añadieron gotas de Ácido clorhídrico al 5% a cada uno.

En un segundo tubo de ensayo, se agregaron 5 mL del filtrado y se añadió una gota de solución de Hidróxido de sodio al 5%.

*Especificación:* La prueba se considera positiva si al agregar Ácido clorhídrico se observa la aparición de color rojo.

La prueba se considera positiva si al agregar Hidróxido de sodio se observa la aparición de color morado.

#### 8.2.2.1.6. Identificación de Quinonas

Se colocó en un tubo de ensayo 5 mL de filtrado inicialmente preparado en el ensayo anterior. Se añadió 1 mL de Peróxido de hidrógeno al 20% y 1 mL de Ácido sulfúrico al 50%. Se calentó

la mezcla en un baño de agua durante 15 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se añadieron 5 mL de Tolueno y se agito sin emulsionar. Se recuperó la fase toluénica. Se trasvasaron 2 mL de la fase toluénica a un tubo de ensayo y se añadió 1 mL de una solución de Hidróxido de sodio al 5% con Amoniaco al 2%. Se Agito sin emulsionar.

*Especificación:* La prueba se considera positiva si se observa la aparición de color rojo.

#### **8.2.2.1.7. Identificación de Taninos**

Del filtrado, se agrega 1 mL a un tubo de ensayo y se añaden unas gotas de cloruro férrico.

*Especificación:* La prueba se considera positiva si se observa la formación de un precipitado.

#### **8.2.2.1.8. Identificación de Alcaloides**

En un mortero se pulverizaron 10 gramos de semilla de ***Amaranthus hypochondriacus*** y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se añadió un volumen suficiente de Ácido clorhídrico al 5% para cubrir la muestra. Se calentó con agitación al baño maría durante 5 minutos. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró. En 4 tubos de ensayo se colocaron 2 mL del filtrado. Se añadió a cada uno 2 gotas de los reactivos de Dragendorff y Mayer.

*Especificación:* La prueba se considera positiva si se observa la formación de un precipitado en los tubos de ensayo.

#### **8.2.2.2. Cromatografía en Capa Fina**

En general se reconoce que el espectro IR constituye el mejor medio de identificación por la claridad con que se caracteriza a una determinada sustancia o material. Cuando no es posible recurrir a la espectrofotometría de absorción infrarroja, la cromatografía en capa delgada o la cromatografía de líquidos de alta resolución son también medios de identificación. Por lo tanto, un ensayo de identidad por infrarrojo o por cromatografía es suficiente para identificar a la sustancia o material.

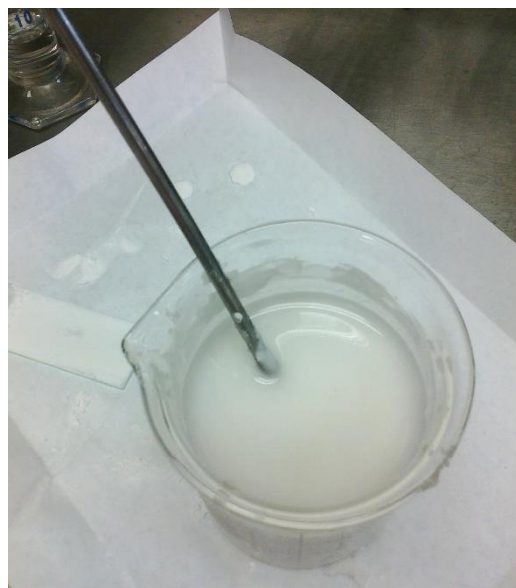
La cromatografía en capa fina es una técnica particularmente valiosa para la determinación cualitativa de pequeñas cantidades de compuestos o impurezas. Esta técnica es fácil de realizar, es efectiva y requiere de quipo poco costoso; por lo tanto, es utilizado frecuentemente para la evaluación de plantas medicinales y de sus preparaciones (*FHEUM,2013*).

La técnica utilizada fue desarrollada mediante el *método clásico*. Se utilizó como material de referencia un Estándar de Escualeno Sigma - Aldrich con el objetivo de determinar la presencia

de Escualeno en el extracto crudo obtenido a partir de semillas de *Amaranthus hypochondriacus*.

Se utilizaron placas de vidrio de grosor uniforme a lo largo de toda su área, las cuales fueron preparadas en el laboratorio, anteriormente a ello, las placas cromatográficas se limpiaron y se colocarán dentro de un líquido limpiador, se enjuagaron minuciosamente hasta que el agua resbalaba de cada placa sin dejar marcas visibles de agua o manchas de aceite y posteriormente se secaron considerando estar perfectamente libres de pelusa o polvo cuando se aplicó el material de recubrimiento (gel de sílice).

Se preparó una lechada del material de recubrimiento (gel de sílice) en agua desionizada. En la solución acuosa, se cubrió cada placa limpia con una capa homogénea de aproximadamente 0.25 mm de espesor. Las placas cubiertas se secaron al aire. Se inspeccionó la uniformidad de cubierta observándolas contra la luz y la textura de la capa adsorbente en la luz reflejada. Para dar terminado se quitó el excedente (2 mm a 5 mm) del material de recubrimiento de los lados verticales de la placa.



**Figura 24.** Preparación del material de recubrimiento para las placas de cromatografía (gel de sílice).

Para la cámara cromatográfica se utilizó un frasco de vidrio transparente, con boca ancha y tapa hermética, de un tamaño adecuado para el acomodo de las placas de cromatografía.

La cromatografía se llevó a cabo en una cámara saturada, con la cantidad suficiente de fase móvil. Se cerró la cámara y se dejó a temperatura ambiente.

Utilizando una micropipeta, se colocó la preparación de la muestra (extracto crudo de Escualeno) y del estándar de referencia en la línea de inicio, la cual era paralela y aproximadamente 15 mm del extremo inferior de la placa y con una separación de por lo menos 15 mm entre una y otra muestra. Las manchas en los puntos de aplicación siendo lo más pequeñas posibles, de preferencia no mayores de 4 mm de diámetro, secando al aire entre cada aplicación. Se marcó la distancia que ascendió la fase móvil.

Se dejaron secar las muestras, se colocó la placa lo más vertical posible dentro de la cámara, asegurando que los puntos de aplicación quedaran por arriba de la superficie de la fase móvil. Se cerró la cámara permitiendo que el disolvente ascendiera hasta la distancia especificada. Se sacó la placa, se marcó el frente del disolvente y se permitió la evaporación del disolvente a temperatura ambiente.

En primer lugar, se observaron las manchas producidas a simple vista, después bajo una lámpara de luz UV de longitud de onda corta y de longitud de onda larga, se marcó el centro de cada mancha. Se midió la distancia del centro de cada mancha al punto de aplicación.

Se calculó la proporción de la distancia recorrida por el frente del disolvente (valor del  $R_F$ ) utilizando las ecuaciones siguientes:

$$RF = a/b$$

$$RF = c/b$$

Donde:

$a$  = la distancia entre el punto de aplicación y el centro de la mancha del material a analizar;

$b$  = la distancia entre el punto de aplicación y el frente del disolvente;

$c$  = la distancia entre el punto de aplicación y el centro de la mancha de la sustancia de referencia.

### 8.3. Metodología de Obtención del Producto Farmacéutico

#### 8.3.1. Excipientes

**Figura 25.** Excipientes para la preparación de la emulsión.



**Tween 80** es un líquido viscoso, de color amarillo-ámbar, con un ligero olor característico, es el tipo de polisorbato más utilizado en formulación magistral. Es un compuesto compatible con el principio activo Escualeno, tolerado y no irritante en la piel y mucosas, puede reducir irritación provocada por detergentes excesivamente agresivos para la piel. Como emulsificante y solubilizante, se agrega en una cantidad de 1 a 15% (Guojun et al., 2014).

**Span 80** es un agente tensoactivo lipofílico no iónico, que se emplea como emulgente en la preparación de emulsiones y pomadas de uso farmacéutico y cosmético. No produce interacciones negativas con el Escualeno, cuando se utiliza solo, forma emulsiones estables de fase externa oleosa, aunque frecuentemente se emplean en combinación con un polisorbato (en este caso, Tween 80) para producir tanto emulsiones de fase externa acuosa como oleosa, con diferentes texturas y consistencias. Como emulsificantes W/O se emplea en una proporción del 1 al 15 % (Guojun et al., 2014).

Las dispersiones que contienen **Alcohol cetílico**, dan un efecto de enfriamiento y relajante sobre la piel, brinda un fácil frotamiento al poseer propiedades emolientes. Se emplea aproximadamente a concentraciones del 2% al 7% (Goetz, 2000).

El **Aceite mineral** es un derivado del petróleo obtenido por destilación, es un líquido oleoso, transparente, no irritante en la piel, además de ser una sustancia de precio accesible presenta una buena capacidad para emulsificarse. Su uso en formulaciones es de 1 a 10% (Francois, 1994).

Se utilizó a la **Vaselina filante** como agente oclusivo, ya que es un excelente medio para ayudar a mantener el producto final sobre la piel, por su viscosidad, además se eligió a este excipiente ya que no reacciona con el principio activo y además no es irritante para la piel y se puede manejar a exposición directa, su costo accesible también lo hace adecuado para la formulación, además de que es muy estable a temperatura ambiente y es la base de muchas formulaciones farmacéuticas (Transmerquim, 2014).

Como segundo agente oclusivo se utilizó a la **Vaselina líquida**, ya que ayuda a prolongar la estancia del producto sobre la piel además de que funciona como un protector dermatológico y una acción antiséptica, su propiedad como emoliente lo hacen adecuado para irritaciones en la piel y para eliminar algunas costras y humecta la piel, como un derivado de hidrocarburos, se encuentra en estado líquido y este no presenta ningún color u olor al producto final y no tiene ninguna interacción con los demás componentes de la formulación (Cofares, 2011).

Es necesaria la utilización de un conservador para asegurar que la emulsión se conserve de forma adecuada como regla general los conservantes deben de estar en la fase acuosa, teniendo en cuenta que el conservador no se debe calentar en exceso para que este no altere su función (Draelas, 2006).

El **Benzoato de sodio** fue utilizado como conservador, ya que es muy eficaz para inhibir la contaminación por presencia de levaduras, hongos y bacterias, debido a sus características este componente de color blanco no tiene un olor o sabor, es muy estable a temperatura ambiente, además la FDA y la OMS lo han designado como generalmente seguro, y tiene un rango aceptable de hasta un 0.1 % en la formulación y no interactúa con ninguno de los excipientes.

Se agregó **Mentol** como esencia, al poseer propiedades refrescantes debido a la estimulación de “los receptores de frío” mediante la inhibición de las corrientes de Ca de las membranas neuronales y antifúngicas, lo que brinda una sensación de bienestar al aplicar el producto sobre la piel, dentro de sus usos se encuentra la elaboración de ungüentos para dolores, este producto no se recomienda para formulaciones a niños menores de 3 años (Acofarma, 2011).

El **Agua desionizada** se utilizó como disolvente ya que además de ser el disolvente universal es muy accesible y su costo no es muy elevado, además es la fase acuosa, además de no tener ninguna incompatibilidad con los demás compuestos.

### 8.3.2. Formulación de Emulsión

**Tabla 3. Formulación de Emulsión de Escualeno al 2%**

<b>Componente</b>	<b>Función</b>	<b>% p/p</b>	<b>Lote 300 g</b>
<i>Escualeno</i> (extracto crudo)	Principio activo	2%	6 g
<i>Tween 80</i>	Agentes	0.52%	1.53 g
<i>Span 80</i>	emulsificantes	4.48%	13.44 g
<i>Alcohol cetílico</i>	Vehículo oleoso,	2.95%	8.85 g
<i>Aceite mineral</i>	opacificante, emoliente	18%	54 g
<i>Agua desionizada</i>	Fase acuosa	13.55%	40.68 g
<i>Vaselina filante</i>	Oclusivos	48%	144 g
<i>Vaselina líquida</i>		9%	27 g
<i>Benzoato de sodio</i>	Conservador	0.2%	0.6 g
<i>Mentol</i>	Esencia	1.3%	3.9 g
<b>Total</b>		<b>100%</b>	<b>300 g</b>

El balance hidrófilo-lipofílico o Equilibrio hidrófilo-lipofilo es un sistema diseñado por Griffin en 1949 en el cual se le asigna un número BHL/EHL a un agente emulsificante que es característico de su polaridad relativa. El sistema de equilibrio aprovecha la circunstancia de que una barrera interfacial más hidrófila favorece las emulsiones o/w, mientras que una barrera menos polar favorece las emulsiones w/o. Mediante este sistema de números se establece el intervalo HLB de eficacia óptima para cada clase de surfactante. Cada surfactante tiene asignado un número HLB que representa las proporciones relativas de los componentes hidrófilos y lipófilos de la molécula (Aulton, 2004). En una emulsión, el valor del HLB del emulsificante intenta estimar la atracción simultánea que experimenta por las fases acuosa y oleosa.

Tabla 4. HLB de la Fase Oleosa para Emulsión de Escualeno \_\_%

Compuesto	%P/P	HLB	Fracción x HLB de ref.	HLB parcial
Alcohol cetílico	2.95	15	$\left(\frac{2.95}{60.95}\right) 15$	0.72
Aceite mineral	6.6	5	$\left(\frac{6.6}{60.95}\right) 5$	0.54
Vaselina filante	48	5	$\left(\frac{48}{60.95}\right) 5$	3.93
Vaselina líquida	3.4	4	$\left(\frac{3.4}{60.95}\right) 4$	0.22
<b>Total</b>	60.95%		<b>HLB crítico :</b>	<b>5.41</b>

El HLB de 5.41 se encuentra en el rango de 0-9 con valor lipofílico de la escala de HLB por lo que favorece la formación emulsión W/O.

#### Porcentaje de la mezcla de emulsificantes

<b>A = Tween 80 (HLB 15)</b> <b>B = Span 80 (HLB 4.3)</b>	$\%A = \frac{HLB\ crítico - B}{HLB\ alcohol\ cetílico - B} (100)$	$\%A = \frac{5.41 - 4.3}{15 - 4.3} (100)$ $= 10.37\%$
	$\%B = 100 - \%A$	$\%B = 100 - 10.37 = 89.63\%$



### Cálculos de los gramos de emulsificantes necesarios en 100 g de emulsión

$$\textit{Tween 80} = \frac{5g}{100\%} (\%A)$$

$$\begin{aligned} \textit{Tween 80} &= \frac{5g}{100\%} (10.37\%) \\ &= 0.52g \end{aligned}$$

$$\textit{Span 80} = \frac{5g}{100\%} (\%B)$$

$$\textit{Span 80} = \frac{5g}{100\%} (89.63\%) = 4.48g$$

### Cálculos de los gramos de emulsificantes necesarios en 300g



$$\textit{Tween 80} = \frac{0.52g}{100g} (300g) = 1.56g$$

$$\textit{Span 80} = \frac{4.48g}{100g} (300g) = 13.44g$$

### Conversión de gramos a mililitros de los componentes en estado líquido

Las concentraciones de agua y/o aceite se expresan como porcentaje (v / v).

La determinación de gramos a mililitros, se determina aplicando la siguiente fórmula:

$$V = \frac{m}{\delta}$$

$V = \textit{volumen}$

$m = \textit{masa}$

$\delta = \textit{densidad}$

Para ello es necesario conocer la densidad de cada uno de los compuestos, para sustituir valores.

$\textit{Tween 80}: \frac{1.53g}{1.1g/mL} = 1.4mL$	$\textit{Aceite mineral}: \frac{18g}{0.8g/mL} = 22.5mL$
$\textit{Span 80}: \frac{13.44g}{0.990g/mL} = 13.6mL$	$\textit{Vaselina liquida}: \frac{9g}{0.905g/mL} = 9.9mL$

### 8.3.3. Preparación de la emulsión

Un número creciente de emulsiones se formulan con emulsificantes sintéticos en especial no iónicos. Los componentes de estas formulaciones se dividen entre los más solubles en aceite y los que son en agua. En el método caliente, estos son disueltos en sus respectivos solventes calentándolos a temperatura alrededor de 70 a 75°C. Cuando la disolución es total, las dos soluciones se mezclan y el producto se revuelve hasta su enfriamiento, no requieren más de dos recipientes, un termómetro y una fuente de calor.

El **método caliente** es empleado necesariamente en la preparación de emulsiones que contiene ceras y otros materiales de alto punto de fusión que deben fundirse antes de que puedan dispersarse en la emulsión. La metodología relativamente simple que involucra los emulsificantes sintéticos del tipo de los tensoactivos es uno de los factores que han favorecido su amplio uso en la preparación de emulsiones. A su vez esto ha originado una declinación del uso de los agentes emulsificantes naturales (*Gennaro, 2003*).

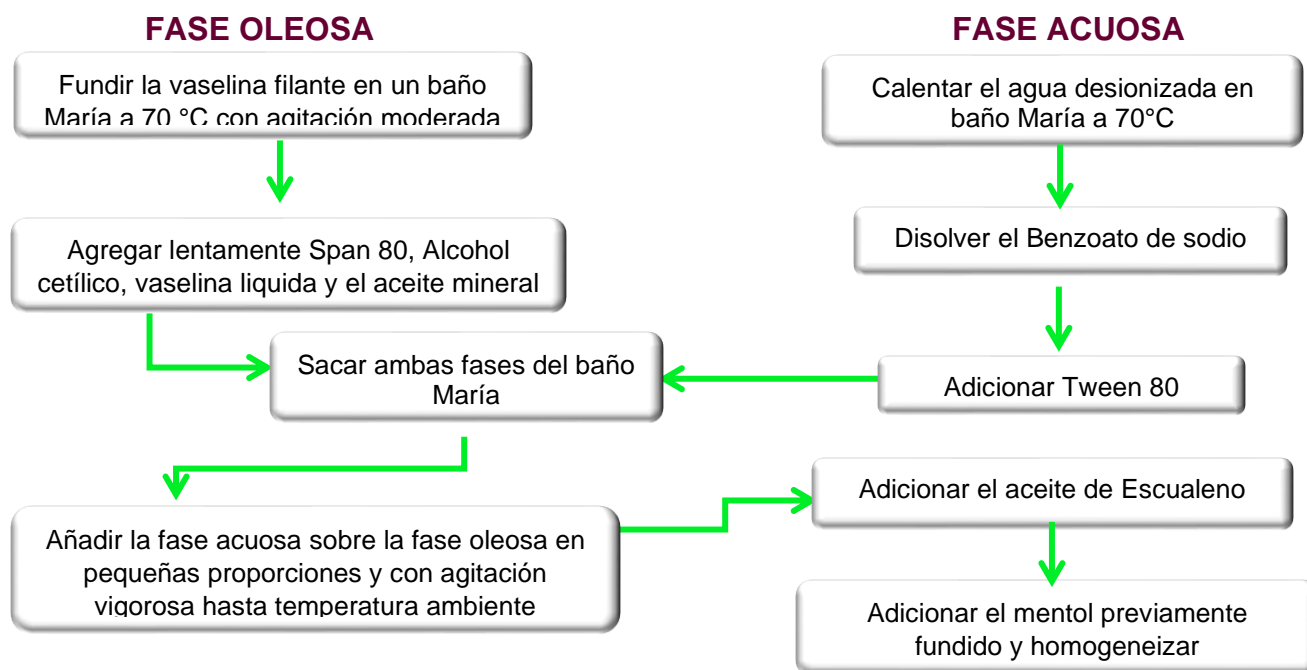
Con el paso del tiempo la fabricación de emulsiones ha sido más sofisticada, ya que se emplea maquinaria para tener una rotación mecánica, los principales equipos utilizados para la emulsificación son agitadores de paletas y mezcladores de alta velocidad como lo son los molinos coloidales; que agitan o sacuden el sistema en forma convencional. Para tener homogenización se utilizan homogeneizadores a presión, homogeneizadores ultrasónicos., con los cuales se obtiene emulsiones estables ya que las dispersiones son más finas (*Boatella, 2004*).

A continuación, se describe el procedimiento llevado a cabo mediante el método caliente para la elaboración de la emulsión tópica a partir de Escualeno extraído de amaranto (*Amarantus hypochondriacus*).

La preparación de la fase oleosa y la fase acuosa se realizó de forma simultánea.

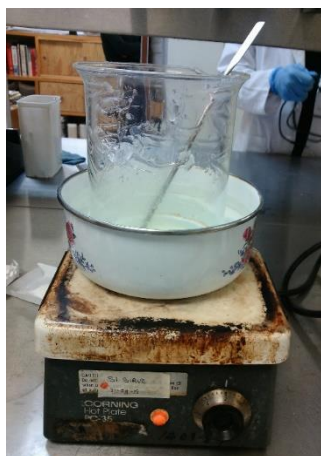
- 1) **Fase oleosa:** La vaselina filante fue fundida en un baño María a una temperatura de 70 °C y posteriormente se adicionaron lentamente cada uno de los siguientes excipientes: Span 80, Alcohol cetílico, vaselina líquida y por último el aceite mineral, manteniendo una agitación moderada con una varilla de vidrio.
- 2) **Fase acuosa:** En un baño María, se calentó el agua desionizada a 70°C y se adicionó Tween 80.

- 3) Fundida la fase oleosa, se retiraron ambas fases del baño María, debiendo tener la fase acuosa una temperatura mayor que la fase oleosa (respecto a los puntos ebullición).
- 4) Se agregó la fase acuosa sobre la fase oleosa en pequeñas proporciones, agitando vigorosamente hasta temperatura ambiente. Una vez formada la emulsión y se determinó el realizó la prueba de determinación de pH (Ver punto 8.3.4).
- 5) Con ayuda de una pipeta, el aceite de Escualeno fue agregado a la emulsión, agitando lentamente hasta homogeneizar.
- 6) Finalmente se fundió el mentol y se adicionó a la emulsión agitando hasta lograr homogeneidad.
- 7) El producto se trasvasó a un recipiente hermético y de material opaco.



\*Mantener agitación moderada en todo momento

**Figura 26.** Diagrama de flujo para la elaboración de emulsión w/o de Escualeno al 2%



**Figura 27.** Preparación de la fase oleosa de la emulsión.

### 8.3.4. Pruebas fisicoquímicas

#### 8.3.4.1. Apariencia

Se realizó una evaluación visual de la emulsión obtenida en el procedimiento anterior, en un vaso de precipitados de 250 mL.

*Especificación:* La prueba cumple si se observa una emulsión aparentemente viscosa, sin partículas extrañas ni precipitado de aroma agradable característico del mentol, color blanco ligeramente amarillo y no se detecta separación de fases.

#### 8.3.4.2. Prueba de Irritabilidad en piel

Esta prueba pone de manifiesto las reacciones inflamatorias locales que se presentan sobre piel intacta.

##### *Procedimiento*

- 1) Se aplicó el producto terminado sobre el antebrazo.
- 2) Se colocó una cinta oclusiva durante 15 minutos.
- 3) El procedimiento anterior fue repetido por 15 días consecutivos.

Tabla 5. Especificación de emulsión sobre la piel	
Puntaje	Determinación
0	Sin reacción visible.
1	Eritema leve.
2	Eritema intenso.
3	Eritema intenso con edema.

#### 8.3.4.3. Viscosidad

El método está basado en la medición de la resistencia que ofrece un fluido, cuando se le aplica una fuerza que lo induce al movimiento, bajo condiciones establecidas.

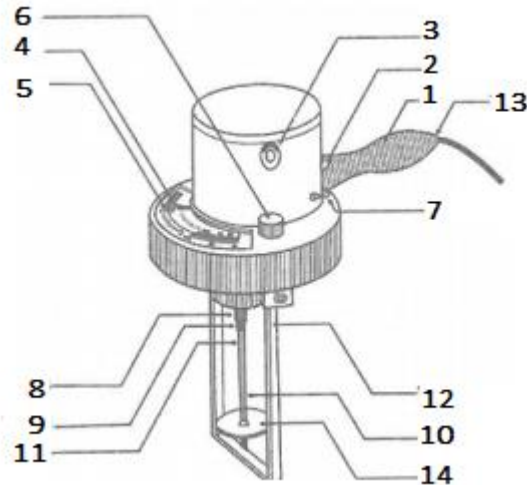
El método que a continuación se definen fue empleado en la determinación de la viscosidad de la emulsión:

La prueba de viscosidad sirve para determinar la resistencia de un fluido a desplazarse. Al conocer la viscosidad de una emulsión, se podrá estimar un aproximado de fricción al aplicarse sobre la piel. La prueba se realiza en un viscosímetro rotacional.

Este método consiste en medir la resistencia que ofrece un fluido al movimiento rotatorio y es aplicable a fluidos no newtonianos.

*Viscosímetro tipo "Broockfield".*

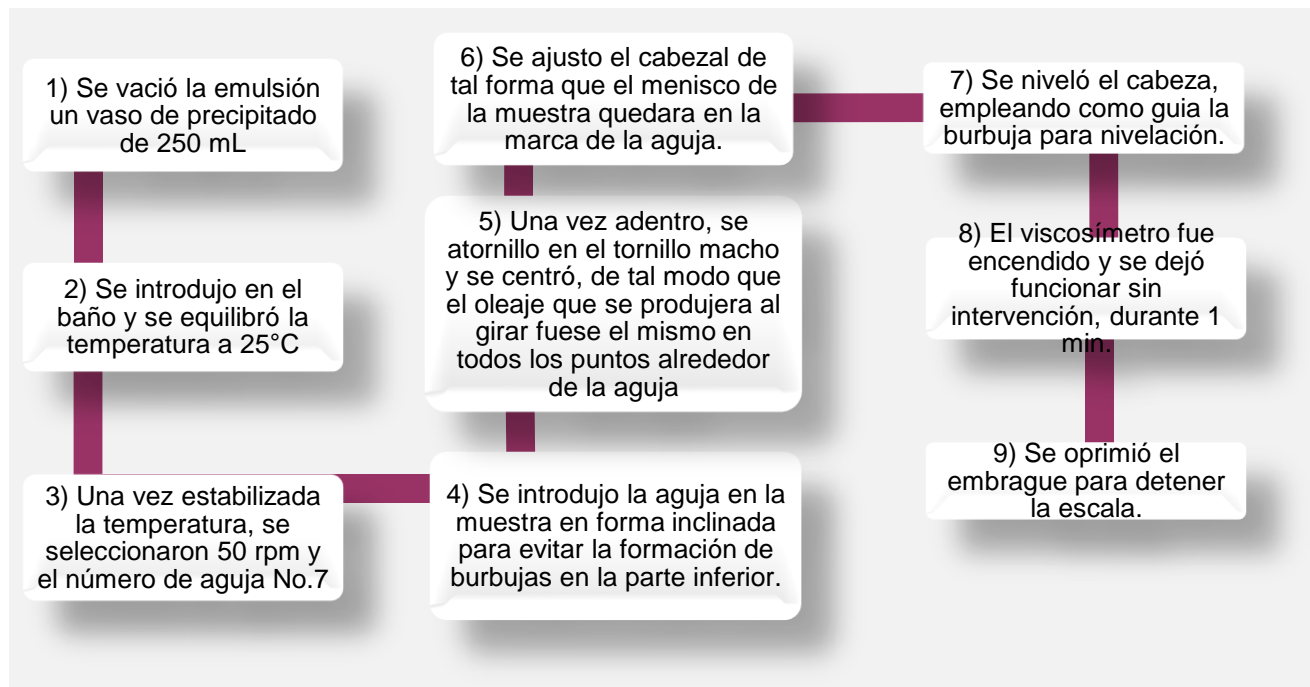
Este tipo de viscosímetro está compuesto de un cabezal que tiene integrados los accesorios siguientes:



**Figura 28.** Partes del viscosímetro de Brookfield

- (1) Mango de baquelita
- (2) Embrague para detener la escala
- (3) Perilla selectora de viscosidad en revoluciones por minuto
- (4) Aguja para señalar la lectura en la escala
- (5) Escala rotatoria, en forma de disco, graduada de 0-100 o de 0-100 y de 0-500, proporcional a la viscosidad del fluido
- (6) Burbuja para nivelación
- (7) Interruptor para encendido y apagado
- (8) Tornillo macho para fijar la aguja
- (11) Juego de agujas numeradas, con un tornillo hembra (9) en el extremo superior
- (10) Marca a una altura determinada
- (14) Disco en la parte inferior, que varía en diámetro según el número de aguja.
- (12) Barra de protección para evitar rozamientos
- (13) Tornillo hembra estriado para fijar el cabezal, envase adecuado para la muestra, de material resistente a la corrosión

## Procedimiento



**Figura 29.** Diagrama del procedimiento para la prueba de viscosidad.

La operación fue repetida tres veces y se promediaron las lecturas.

### *Cálculos.*

Para obtener la viscosidad absoluta de la muestra en centipoise, se multiplicó la lectura promedio obtenida, por el factor correspondiente de la tabla 0951.2 de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

**Tabla 6. Especificación de viscosidad**

<b>Tiempo</b>	Prueba realizada en 3 días consecutivos.
<b>Variación de viscosidad</b>	Si existe una variación mayor 1% de la viscosidad original en las muestras, se trata de una emulsión poco estable.

### **8.3.4.4. Prueba de centrifugación**

La prueba de centrifugación permite evaluar la resistencia de una emulsión a separarse. Aplicando una fuerza gravitacional artificial sobre emulsiones, se puede determinar la fuerza de la emulsión que la ayuda a mantenerse estable a una separación de fases, esta prueba es empleada para determinar la caducidad de una emulsión por su consistencia de estabilidad. Se realiza en una centrifuga para emulsiones y dispersiones.

### *Procedimiento*

- 1) Se llenaron 4 tubos de centrifuga con una cantidad de 10 g de emulsión cada una.
- 2) Se adecuaron los pesos de las centrifugas de mesa para los 4 tubos.
- 3) Se acomodó un tubo por cada esquina de la centrifuga y se taparon.
- 4) Se programó la centrífuga a 3500 rpm/15 min para la emulsión.
- 5) Se sacaron los tubos y se observó si se presentaba alguna separación de fases.

<b>Tabla 7. Especificación de centrifugación</b>	
<b>No existe separación de fases</b>	La emulsión cuenta con una estabilidad adecuada, teniendo una caducidad mayor a un año.
<b>Existe separación de fases</b>	La emulsión contara con una menor estabilidad, y tiempo de caducidad será menor a un año.

#### **8.3.4.5. Determinación de pH**

Esta es una prueba útil para conocer si el producto final tiene un carácter ácido, alcalino o neutro. Esta prueba será fundamental para determinar si el producto se puede ser aplicado sobre la piel.

##### **8.3.4.5.1. Determinación con indicador químico**

*Materiales, sustancias y reactivos:* *papel tornasol o papel pH*

- 1) Se colocó una muestra de la emulsión sobre papel tornasol o papel pH.
- 2) Se esperó hasta observar un cambio en la coloración natural de este.
- 3) Se analizó comparando el pH obtenido en una tabla de pH.
- 4) Esta prueba se realizó por triplicado.

*Especificación:* El papel muestra un viraje correspondiente a un valor de pH de 7.5 a 9.5.

##### **8.3.4.5.2. Medición con potenciómetro**

*Materiales, sustancias y reactivos:* vaso de precipitados de 250 mL, potenciómetro, agua desionizada y un lienzo suave.

- 1) En un vaso de precipitados de 250 mL se colocó la cantidad de suficiente de emulsión para cubrir el electrodo del potenciómetro.
- 2) El electrodo del potenciómetro (previamente ajustado), fue sumergido en la emulsión.
- 3) Cuando la pantalla se estabilizó, se observó el valor del pH de la muestra.
- 4) Esta prueba se realizó por triplicado, enjuagando el electrodo con agua desionizada y secando con un lienzo suave entre cada lectura.

Tabla 8. Especificación de pH	
Valor de pH	Determinación
<6	pH ácido - no aceptable
7.5	pH neutro – aceptable
>8.5	pH básico – aceptable
<i>El rango aceptable de pH debe de ser de 7.5 a 9.5 según la FEUM.</i>	

#### 8.3.4.6. Prueba de extensibilidad

El objetivo de esta prueba es cuantificar la posible extensión de emulsión cuando se ve sometido a una presión variable en intervalos fijos de tiempo.

*Procedimiento:*

- 1) Se colocó una placa de vidrio sobre una hoja de papel milimétrico.
- 2) Se marcó la placa sobre la hoja, trazando las diagonales.
- 3) Se pesó una muestra de  $1 \pm 0.1$ g de emulsión y se colocó sobre el punto de intersección en la placa.
- 4) Se colocó una placa de vidrio sobre la emulsión contenida en la primera placa.
- 5) Después de 1 minuto se determinó el diámetro (mm) de la circunferencia formada.
- 6) Se comprimió colocando diferentes pesos sobre la circunferencia, de forma ascendente.
- 7) Se calculó la superficie del círculo formado en cada medición.

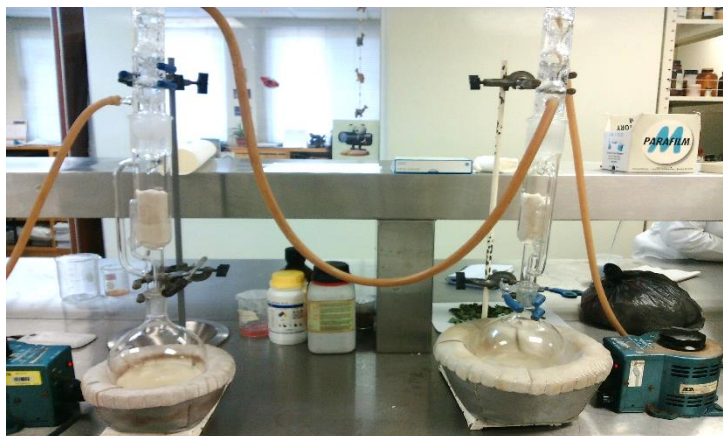
Tabla 9. Especificación de extensibilidad	
Parámetro	Especificación
Extensibilidad a 1 kg (mm <sup>2</sup> )	1320.6 mm <sup>2</sup> ± 103.5 mm <sup>2</sup>

## 9. Resultados

### 9.1. Extracción por Soxhlet

Tabla 10. Resultados de la extracción por Soxhlet	
Medio de Extracción	Extracto de Escualeno obtenido (mL)
Hexano	6
Mezcla hidroalcohólica	8
Éter etílico	4





**Figura 30.** Extracción de aceite de Escualeno por sistema Soxhlet a partir de semillas de *Amaranthus hypochondriacus*.

## 9.2. Ensayos de identidad

### 9.2.1. Tamizaje fitoquímico

Se realizó el tamizaje fitoquímico del extracto crudo y semillas de *Amaranthus hypochondriacus*. La siguiente tabla presenta los resultados del tamizaje fitoquímico.

**Tabla 11. Resultados de Tamizaje Fitoquímico**

Metabolito secundario	Ensayo	Presencia en extracto
<i>Cumarinas</i>	Fluorescencia	( - )
<i>Saponinas</i>	Espuma	( - )
<i>Triterpenos</i>	Lieberman- Buchard	( + )
<i>Flavonoides</i>	FeCl <sub>3</sub>	( + )
<i>Antocianinas</i>	HCl	( - )
<i>Quinonas</i>	Borntrager	( + )
<i>Taninos</i>	FeCl <sub>3</sub>	( + )
<i>Alcaloides</i>	Dragendorff Mayer	( + )



**Figura 31.** Ensayo para determinar la presencia de flavonoides en semillas de *Amaranthus hypochondriacus*.



**Figura 32.** Ensayo para determinar la presencia de saponinas en semillas de *Amaranthus*



**Figura 33.** Ensayo para determinar la presencia de triterpenos en semillas de *Amaranthus hypochondriacus*.



**Figura 4.** Ensayo para determinar la presencia de antocianinas en semillas de *Amaranthus hypochondriacus*.

### 9.2.2. Cromatografía en capa fina

$$RF = a/b$$

$$RF = 34 \text{ mm}/68 \text{ mm} = 0.5$$

$$RF = c/b$$

$$RF = 36 \text{ mm}/68 \text{ mm} = 0.5$$

Donde:

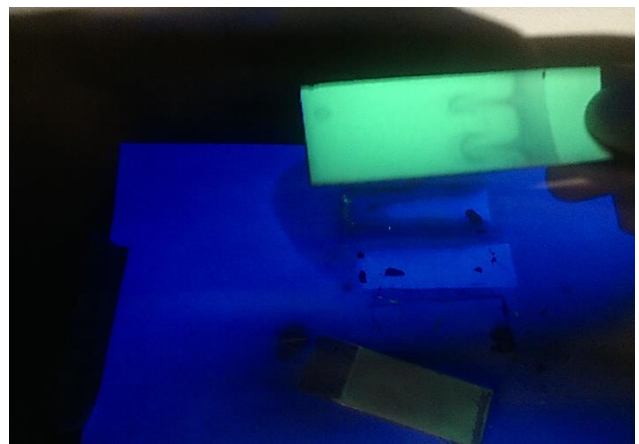
$$a = 34 \text{ mm}$$

$$b = 68 \text{ mm}$$

$$c = 36 \text{ mm}$$



**Figura 35.** Cámara de cromatografía.



**Figura 36.** Placa cromatográfica bajo luz UV

### 9.3. Obtención del producto farmacéutico



**Figura 37.** Adición de la fase acuosa a la fase oleosa.



**Figura 38.** Homogenización de fases de la emulsión.



**Figura 39.** Emulsión tópica de aceite de Escualeno, en envase primario.

### 9.4. Pruebas fisicoquímicas

Los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico realizado a la emulsión, se muestran en las siguientes tablas.

#### 9.4.1. Apariencia

**Tabla 12. Resultado de la prueba de apariencia**

Prueba	Especificación	Resultado
<b>Apariencia</b>	La prueba cumple si se observa una emulsión aparentemente viscosa, sin partículas extrañas ni precipitado, de aroma agradable característico del mentol, color blanco ligeramente amarillo y no se detecta separación de fases.	<i>Se obtuvo una emulsión con consistencia viscosa, sin partículas extrañas ni precipitado, de aroma agradable característico del mentol, color blanco ligeramente amarillo y no presentó separación de fases.</i>

### 9.4.2. Prueba de irritabilidad en piel

Tabla 13. Resultado de la prueba de irritabilidad en piel			
Prueba	Especificación		Resultado
Irritabilidad en piel	0	Sin reacción visible	<i>(0) Sin reacción visible</i>
	1	Eritema leve	
	2	Eritema intenso	
	3	Eritema intenso con edema	

### 9.4.3. Viscosidad

Tabla 14. Resultado de la viscosidad			
Prueba	Especificación	Resultado	
Viscosidad	Si existe una variación mayor 1% de la viscosidad original en las muestras, se trata de una emulsión poco estable.	<i>Día 1</i>	<i>32 000 cps</i>
		<i>Día 2</i>	<i>31 900 cps</i>
		<i>Día 3</i>	<i>31 600 cps</i>
		<i>Variación=</i>	<i>0.65%</i>

### 9.4.4. Centrifugación

Tabla 15. Resultado de la prueba de centrifugación			
Prueba	Especificación		Resultado
Extensibilidad	<b>No existe separación de fases</b>	La emulsión cuenta con una estabilidad adecuada, teniendo una caducidad mayor a un año.	<i>No se observó separación de fases.</i>
	<b>Existe separación de fases</b>	La emulsión contara con una menor estabilidad, y tiempo de caducidad será menor a un año.	



Figura 40. Prueba de centrifugación.

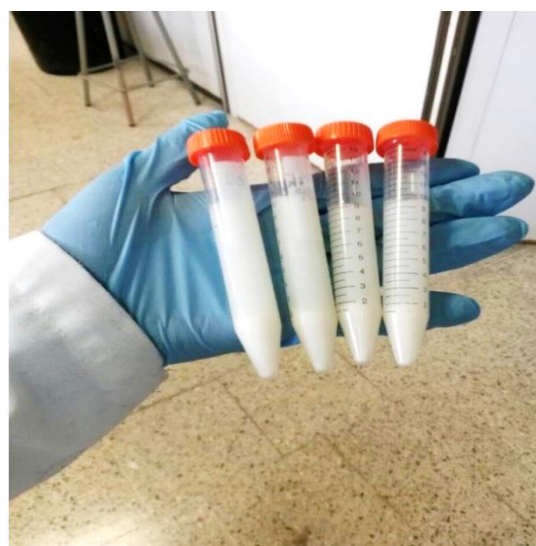


Figura 41. Tubos de prueba de centrifugación.



#### 9.4.5. Determinación de pH

Tabla 16. Resultado de la determinación de pH				
Prueba		Especificación	Muestra	Resultado
Determinación de pH	Indicador químico	El papel muestra un viraje correspondiente a un valor de pH de 7.5 a 9.5.	1	8
			2	8
			3	8
	Potenciómetro	El rango aceptable de pH debe de ser de 7.5 a 9.5.	1	7.921
			2	7.982
			3	7.892
			Promedio	7.931
			Desvest	0.046

#### 9.4.6. Prueba de extensibilidad

Tabla 17. Resultados de la prueba de extensibilidad			
Tiempo (min)	Peso agregado (g)	Radio del círculo (mm)	Área de superficie del círculo (mm <sup>2</sup> )
1	0	36	407.1
2	20	38	453.6
3	50	41	528.1
4	100	44	608.2
5	200	51	817.1
6	250	53	882.4
7	500	57	1020.7
8	750	60	1131.0
9	1000	64	1286.8
Especificación	<b>Extensibilidad a 1 kg (mm<sup>2</sup>)</b>		<b>1320.6 mm<sup>2</sup> ± 103.5 mm<sup>2</sup></b>



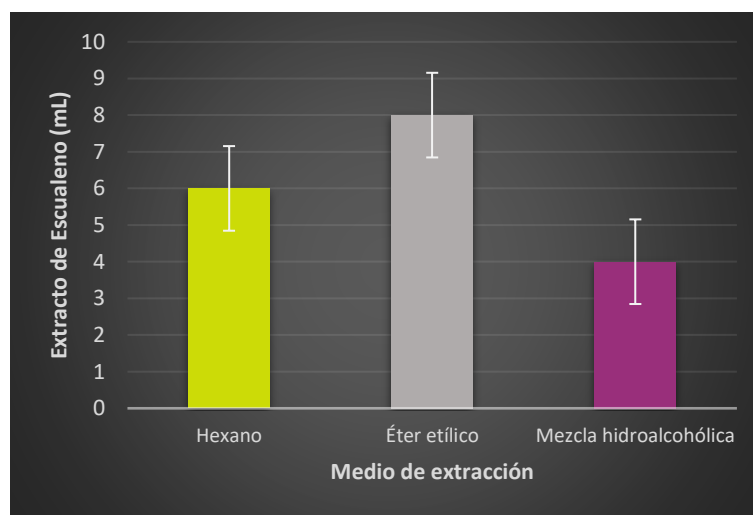
Figura 42. Prueba de extensibilidad.

## 10. Análisis de Resultados

### 10.2. Extracción por Soxhlet

El aceite de Escualeno contenido en las semillas de *Amaranthus hypochondriacus* se obtuvo mediante tres extracciones con Soxhlet, usando un disolvente diferente en cada una.

El mayor rendimiento de la extracción de aceite de Escualeno realizada con distintos disolventes como medios de extracción, se obtuvo a partir del éter etílico, seguido de la extracción con hexano y la realizada con mezcla hidroalcohólica, en donde se obtuvo un rendimiento del 50% comparado con el de éter etílico.



**Figura 43.** Rendimiento de extracto de Escualeno obtenido a partir de semillas de *Amaranthus hypochondriacus* mediante extracción por Soxhlet.

El contacto de las semillas con el disolvente en el método Soxhlet, mejoran la cantidad de aceite extraído de las semillas. Por otra parte, también se debe considerar que el contenido de aceite determinado por el método Soxhlet se expresa en materia seca.

Algunos estudios previos sugieren que la reducción del tamaño de las semillas, independientemente de su tipo, tiene un efecto significativo sobre la cantidad de aceite obtenido. El proceso de trituración altera la capa de la semilla, aumentando el área específica de las partículas, reduciendo la resistencia de transferencia de masa y dejando el aceite más accesible al disolvente, lo que aumenta la tasa de extracción y la producción de aceite. En el caso de las semillas de *Amaranthus hypochondriacus*, la trituración de semillas es particularmente importante debido a la dureza de la cáscara de la semilla (Wejnerowska et. al, 2013).

### 10.3. Ensayos de identidad

#### 10.3.1. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico del extracto crudo y semillas de *Amaranthus hypochondriacus* evidenció gran diversidad de metabolitos bioactivos: triterpenos, flavonoides, taninos y alcaloides, así como la ausencia de cumarinas, saponinas y antocianinas. En numeral 7.4. del presente trabajo, se menciona que el amaranto cultivado en invernaderos muestra presencia de antocianinas, sin embargo, el resultado negativo en el ensayo realizado, puede atribuirse a que la muestra analizada proviene de una planta que fue cultivada en campo abierto.

#### 10.3.2. Cromatografía en capa fina

Después de la extracción con Soxhlet el disolvente se eliminó con un rotavapor y el aceite de Escualeno obtenido fue analizado por cromatografía en capa fina comparado contra un estándar. El resultado obtenido en esta prueba sugiere que la cromatografía en capa fina es un método confiable para la identificación de Escualeno en las semillas de *Amaranthus hypochondriacus* y a su vez, denota que el método de extracción Soxhlet es adecuado para el aislamiento de Escualeno.

### 10.4. Obtención del Producto Farmacéutico

La selección de los componentes de un producto farmacéutico es un punto crítico en la obtención de la emulsión. La adición de la fase acuosa a la oleosa, es otra parte importante, dado que, de suceder en orden contrario, imposibilitaría la formación de la emulsión W/O.

El cálculo del HLB permitió calcular el porcentaje de los emulsificantes a emplear y con ello facilitar la mezcla de los componentes para la formación de la emulsión.

### 10.5. Pruebas fisicoquímicas

Se realizó la prueba de apariencia, en la cual se evaluaron las características organolépticas de la emulsión, cumpliendo resultados satisfactorios, obteniendo una emulsión aparentemente viscosa, sin partículas extrañas ni precipitado, con aroma agradable característico del mentol, color blanco ligeramente amarillo y sin presentar de separación de fases, lo cual permite inferir que el aspecto de la emulsión obtenida, es el óptimo la aceptación del paciente.

La viscosidad de la emulsión se evaluó mediante un método farmacopeico, durante tres días consecutivos, al obtener resultados dentro de especificación, se le puede atribuir estabilidad al producto. Otro indicativo estabilidad en la emulsión es que no presente separación de fases,

lo cual se verificó mediante la prueba de centrifugación, en la cual no se observó dicho fenómeno.

En la medición de pH se determinó que la emulsión presenta un valor promedio de pH de 7.931, dentro del rango de especificación (7.5 a 9.5). Un valor de pH inadecuado, puede producir la inestabilidad de la emulsión, así como producir reacciones adversas en el paciente, por ejemplo, irritabilidad, lo cual fue evaluado mediante una prueba, en donde no se presentó ninguna reacción de este tipo.

Relacionado con la aplicación del producto en el paciente, se evaluó la extensibilidad de la emulsión, obteniendo resultados dentro de especificación.

## 11. Conclusión

Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que la extracción por Soxhlet es un método convencional para la obtención de aceite de Escualeno a partir de semillas de ***Amaranthus hypochondriacus***, especie que además de contener Escualeno, posee diversos metabolitos secundarios: triterpenos, flavonoides, taninos y alcaloides, de acuerdo con los resultados obtenidos.

Características como la apariencia, pH, viscosidad, ausencia de separación de fases y extensibilidad le atribuyen Calidad y estabilidad al producto farmacéutico, por lo que se considera de suma importancia realizar pruebas y ensayos para su determinación.

El Escualeno es un compuesto que, en combinación con los excipientes y seleccionando un proceso adecuado, permite obtener una emulsión tópica O/W con características óptimas como para el uso en pacientes, particularmente los que padecen diabetes y presentan complicaciones en la piel.

## 12. Expectativas

Se sugiere realizar análisis taxonómico al ***Amaranthus hypochondriacus***, con el fin de tener mayor certeza en la identificación de la especie de la cual será extraído el Escualeno.

Se considera importante, la determinación del contenido de humedad en la semilla, dado que algunos estudios demuestran que la deshidratación de la semilla favorece la recuperación de aceite de Escualeno. Otro factor que favorece la extracción es la disminución del tamaño de



la semilla o molienta, por lo que se sugiere realizar pruebas para determinar el tamaño de partícula.

La purificación del extracto crudo de Escualeno, por ejemplo, por cromatografía en columna; conlleva al aislamiento de dicha molécula, facilitando su identificación por espectro IR y/o Resonancia Magnética Nuclear.

El aislamiento de Escualeno de semillas de ***Amaranthus hypochondriacus*** mediante dióxido de carbono supercrítico es una alternativa de costo más elevado que la extracción por Soxhlet, sin embargo, se han reportado mayores rendimientos (62.7% y 98.2%) utilizando dicho método. Por lo que se sugiere, puede optimizar la obtención del producto farmacéutico.

Se sugiere realizar más pruebas cualitativas y cuantitativas para determinar la presencia de otros metabolitos en el amaranto, dado que puede ser un buen punto de partida para el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos.

Los ensayos y empleados para el tamizaje fitoquímico, pruebas de control de calidad y análisis fisicoquímico, pueden reportar resultados con mayor veracidad si se realizan de fuentes farmacopeicas, de no ser así, esto se puede asegurar con la validación de estos métodos, lo cual, debido a su complejidad no fue posible realizar en el presente trabajo.

Realizar pruebas de estabilidad a corto y largo plazo, permitiría seleccionar un envase primario compatible con la formulación.

Si el producto se elabora bajo condiciones ambientales controladas, realizar pruebas microbiológicas, también permitiría asegurar la eficacia del conservador empleado en la formulación.

Se recomienda que, con el planteamiento de los puntos anteriores y la obtención de resultados satisfactorios, se realicen ensayos en modelos biológicos con diabetes, a fin de comprobar la propuesta del presente proyecto e impulsar el uso de los productos naturales derivados de plantas nacionales.

### 13. Referencias

- ADAM A., Bauer P., Duignan B., Eldridge A., Gregersen E. *Encyclopaedia Britannica* <https://www.britannica.com/science/quinone> (Fecha de consulta:11-noviembre-2019)
- AIRES A., Carvalho r., Saavedra m. *Valorization of solid wastes from chestnut industry processing: extraction and optimization of polyphenols, tannins and ellagitannins and its potential for adhesives, cosmetic and pharmaceutical industry.* *Waste Manag.*, 48 (2016), pp. 457-464, 10.1016/j.wasman.2015.11.019
- ACOFARMA. *Ficha de seguridad de mentol*, Madrid, España: Llobregat. 2011.
- ANDREESCU S., HEPEL M. *Oxidative stress: Diagnostics, prevention, and therapy ACS symposium series*, vol. 1083, American Chemical Society (2011)
- ANU RAHAL A, Amit Kumar A, Vivek Singh V, Brijesh Yadav B, Ruchi Tiwari R, et al. *Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay.* *BioMed* . 1-19. 2014.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.* 2010 Jan; 33(Suppl 1): S62–S69.
- AMORES C., Hernández J. *Activos antioxidantes en la formulación de productos cosméticos antienviejamiento.* *Ars Pharmaceutica.* (2018) 59(2) 77-84
- AULTON M. *Farmacia- La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas.* ELSERVIER. Segunda Edición. Reino Unido (2004) p.p. 336
- BARROS C., Buenrostro M. *Amaranto. Fuente maravillosa de sabor y salud*, México, Grijalbo,1997, p. 158.
- BHAGAT K., Bhagat J., Gupta M., Singh J., Gulati H., Singh H. *Design, synthesis, antimicrobial evaluation, and molecular modeling studies of novel indolinedione–Coumarin molecular hybrids.* *ACS Omega*, 4 (5) (2019), pp. 8720-8730
- Barba de la Rosa, A. P., Fomsgaard, I. S., Laursen, B., Mortensen, A. G., Olvera-Martinez, L., Silva-Sanchez, C., et al. (2009). *Amaranth (Amaranthus hypochondriacus) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolicacids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality.* *Journal of Cereal Science*, 49, 117e121.

- BOOTH K., Bohlmann J. *Terpenes in Cannabis sativa – From plant genome to humans*. Plant Science, Volume 284, July 2019, Pages 67-72
- BUDAI-SZUCS M. *Formulation and investigation of gel-emulsions containing polymeric emulsifiers*. Ph.D. Thesis. University of Szeged, Szeged. 2008.
- BOATELLA, J. Condony, R., Lopéz, P. *Química y Bioquímica de los Alimentos II*. 1<sup>ra</sup> edición. Universidad de Barcelona. 2004.
- BRESSANI, R. *Amaranth*. pp. 166-173. In: B. Caballero, P. Finglas, and L. Trugo (eds.). Encyclopedia of food sciences and nutrition. Academic Press. New York, NY, USA. 2003.
- CAMPOS de Macedo Geisa Maria, Nunes Samanta, Barreto Tania. *Skin disorders in diabetes mellitus: an epidemiology and physiopathology review*. Diabetology & Metabolic Syndrome 8:63. 2016.
- CHEMAT Farid, Maryline Abert-Vian, Anne Sylvie Fabiano-Tixier, Jochen Strube, Giancarlo Cravotto. *Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, Volume 118, Pages 248-263. September, 2019.
- COFARES. *Hoja de seguridad de vaselina liquida*, Madrid España: Irún. 2011.
- COLUCCI R, Currià M. *Diabetes mellitus, hemoglobina glicosilada y stress oxidativo*. Buenos Aires: Orthomolecular; 2010.
- CORKE H. y H.-P. *He, Oil and Squalene in Amaranthus Grain and Leaf*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 51, no. 27, pp. 7913–7920, 2003.
- DRAELAS, Z. *Cosmecéuticos*. ELSERVIER. Madrid España. 2006.
- DONALD E., Mrdjenovich. *Use of Topical Small Molecule Technology to Improve Patient Outcomes in the Diabetic Wound Care Setting*. Journal of the American College of Clinical Wound Specialists; 5: 40–4. 2014.
- ESHAQ RS, Wright WS, Harris NR. *Oxygen delivery, consumption, and conversion to reactive oxygen species in experimental models of diabetic retinopathy*. Redox Biol. 2: 661-666. 2014.

- ESPITIA E., Mapes-Sánchez E., Núñez-Colín c. y Escobedo-López d. *Distribución geográfica de las especies cultivadas de Amaranthus y de sus parientes silvestres en México*. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, vol.1 no.3 Texcoco jul./sep. 2010
- ESPITIA E. *Etnología del amaranto*. Arqueología Mexicana núm. 138, pp. 64-70 (2016)
- ESPITIA-RANGEL E. *Amaranto: ciencia y tecnología*, México, inifap/sinarefi, p. 354 (2012)
- FARMACOPEA HERBOLARIA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS, 2a. Edición, 2013
- FARVIN K. H. S., Anandan R., S. H. S. Kumar et al. *Cardioprotective effect of squalene on lipid profile in isoprenaline-induced myocardial infarction in rats*. Journal of Medicinal Food, vol. 9, no. 4, pp. 531–536, 2006.
- FDA. Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats, and Waxes Estados Unidos.(2nd Edition) (2006)
- FITÓ M. *Efectos antioxidants del aceite de olive y sus compuestos fenólicos*. (2003)
- FRANCOIS K. *The topical emulsions containing ketoconazol*. T2 DE69534120. (1994).
- Gélinas, B., & Seguin, P. (2007). Oxalate in grain amaranth. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 4789-4794.
- GENNARO, A. *Remington Farmacia*. 20<sup>a</sup> edición. Medica Panamericana. Buenos Aires. 2003.
- GUOJUN Lv, Fumin Wang, Wangfeng Cai, Xubin Zhang. *Characterization of the addition of lipophilic Span 80 to the hydrophilic Tween 80-stabilized emulsions*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, Volume 447, 5, Pages 8-13. April 2014.
- GOETZ, C. *Method of making cetyl alcohol emulsions*. US3226295 A. (2000).
- WEJNEROWSKA G., Heinrich P., Gaca J. *Separation of squalene and oil from Amaranthus seeds by supercritical carbon dioxide*. Separation and Purification Technology. Volume 110, 7 (2013), Pages 39-43
- HAN-PING, Yizhong C, Sun M, Corke H. *Extraction and Purification of Squalene from Amaranthus Grain*. J. Agric. Food Chem.;50: 368–372 2002.

HUANG Zih-Rou, Yin-Ku Lin, and Jia-You Fang. *Biological and Pharmacological Activities of Squalene and Related Compounds: Potential Uses in Cosmetic Dermatology Molecules*. 14(1): 540–554.

KUKULA-KOCH W., Widelski J. *Alkaloids*. Pharmacognosy. 2017

LAJIS I., Maulidiani F., Abas I., Ismail S. *Metabolomics Approach in Pharmacognosy*. Pharmacognosy Fundamentals, Applications and Strategies. Pages 597-616. 2017.

LÓPEZ-MEJÍA A, López-Malo A, Palou E. *Capacidad antioxidante de subproductos de semillas de amaranto (Amaranthus hypochondriacus)*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 64. 2014.

MARCONE, M. F. *First report of the characterization of the threatened plant species Amaranthus pumilus (seabeach amaranth)*. J. Agric. Food Chem. 48, 378-382. 2000.

MARTÍNEZ-CHÁVEZ, Carolina G.; Morales-Bautista, Carlos M.; Alor-Chávez, Maricela de J. *Extracción de hidrocarburo pesado en suelo arenoso*, Avances en Ciencias e Ingeniería, vol. 8, núm. 1, enero-marzo, 2017, pp. 9-16

McCLEMENTS. *Nanoparticle-and microparticle-based delivery systems: Encapsulation, protection and release of active compounds*. CRC Press, Boca Raton. 2014.

MOJZER E.B., M.K. Hrnčič, M. Škerget, Ž. Knez, U. Bren. *Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects* *Molecules*, 21 pp. 1-38. 2016.

MORENO-ESPÍNDOLA Iván Pável, María Jesús Ferrara-Guerrero, Fernando De León-González, Facundo Rivera-Becerril y Diego González-Halphen. *Cultivable Bacterial Community from the Rhizosphere of Amaranthus hypochondriacus*. *Terra Latinoam*. Vol.31, n.1, pp.57-69. 2013

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/diabetes> <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/> (Fecha de consulta:12-Septiembre-2016)

O'NEIL, M.J. *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry p. 1624. 2013.

PISOSCHI A., Pop A. *The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress*. A review

European Journal of Medicinal Chemistry, 97 (2015), pp. 55-74

ORRÙ C.D., C.I.G. Tuberoso, *Phenolic compounds in food Prog. Food Chem.* pp. 1-45. 2008.

OVIDIU Popa, Narcisa Elena Băbeanu, Loana Popa, Sultana Niță,<sup>2</sup> and Cristina Elena Dinu-Pârnu<sup>3</sup>. *Methods for Obtaining and Determination of Squalene from Natural Sources.* BioMed Research International. Volume 2015, Article ID 367202, 16 pages. 2015.

Wetting properties of *Saponaria officinalis* saponins

RASTOGI A., SHUKLA S. *Amaranth: A new millenium crop of nutraceutical values*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 53:109-125. (2013)

REKIEL E., Smulek W., Zdziennicka A., Kaczorek E., Jańczuk B. *Wetting properties of Saponaria officinalis saponins*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, Volume 584, 2 January 2020,

REYES, M. F.; Chavez-Servin, J. L.; Gonzalez-Coria, C.; Mercado-Luna, A.; Carbot, K. de la T.; Aguilera-Barreyro, A.; Ferriz-Martinez, R.; Serrano-Arellano, J.; Garcia-Gasca, T. *Comparative account of phenolics, antioxidant capacity, alpha-tocopherol and anti-nutritional factors of amaranth (Amaranthus hypochondriacus) grown in the greenhouse and open field.* International Journal of Agriculture and Biology. Volumen:20 Número:11 Páginas:2428-2436. 2018.

SEIRAFI H, K. Farsinejad , A. Firooz , SM Davoudi , RM Robati , MS Hoseini , AH Ehsani , B. *Sadr Biophysical characteristics of skin in diabetes: a controlled study.* J Eur Acad Dermatol Venereol, 23 ( 2 ), págs. 146 – 149. 2009.

TRANSMERQUIM. *Ficha de seguridad de vaselina sólida*, México: Gtm. 2014.

USP NF. *United States Pharmacopoeial convention Inc.* 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, Maryland 20852, Suplemento 1. USA, pp. 4057. 2007

WESTERMAN D., Santos R., Bosley J., Rogers J., Al-Duri B. *Extracción de aceite de semilla de amaranto por dióxido de carbono supercrítico.* J. Supercrit Fluids , 37, pp. 38 - 52. 2006.

WICKRAMARATNE M. N., J.C. Punchihewa, D.B.M. *Wickramaratne*In-vitro alpha amylase inhibitory activity of the leaf extracts of *Adenantha pavonina* *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, pp. 1-5. 2016.

XU D.-P., J. Zheng, Y. Zhou, Y. Li, S. Li, H.-B. Li. *Extraction of natural antioxidants from the Thelephora ganbajun Mushroom by an Ultrasound-Assisted Extraction Technique and Evaluation of Antiproliferative Activity of the Extract against Human Cancer Cells*. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, pp. 1-15. 2016.

YANG L., Ling W, Du Z., Chen Y., Li D., Deng S. *Effects of Anthocyanins on Cardiometabolic Health: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*. *Advances in Nutrition*. 8 (5), pp. 684 – 693. 2017.

YUAN Y., Zhang J., Liu S., Meng M., Lin J. *Tissue-specific transcriptome for Dendrobium officinale reveals genes involved in flavonoid biosynthesis*. *Genomics*, In press, corrected proof, Available online 31 October 2019

ZEHRING, J.; Reim, V.; Schroeter, D.; Neugart, S.; Schreiner, M.; Rohn, S.; Maul, R. *Identification of novel saponins in vegetable amaranth and characterization of their hemolytic activity*. *Food Research International*. Volumen:78 Páginas:361-368. 2015.

ZANNINI E., Arendt E. *Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition Book (2013). Pág: 442-447.

---

*Diseño de una emulsión tópica formulada a partir de Escualeno extraído de semillas de amaranto (Amaranthus hypochondriacus) con posible uso antidiabético*

---

Proyecto genérico: Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

Etapas: Extracción de principios activos o sustancias auxiliares a partir de productos naturales.

**Presentado por:**

***Laura Patricia Lugo Torres***

Matrícula: 2123024753

Dirección: Paseo de las Galias, Edif. 5, Dpto. 6, Lomas Estrella, 2da. Sección, Iztapalapa, Ciudad de México, C.P. 09890.

Teléfono: 55 5695 0911

Celular: 5533492073

Correo electrónico: [laura.lugo.qfb@gmail.com](mailto:laura.lugo.qfb@gmail.com)

**Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo**

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Sistemas Biológicos

Asesor: M. en C. Francisco López Naranjo



**Lugar de realización:** Laboratorio 109 Fármacos Huérfanos y Excipientes. Unidad Interdisciplinaria de Docencia Investigación y Servicio (UIDIS) de la Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco.

**Ciudad de México, Febrero de 2020.**



## RESUMEN

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, y la higiene e hidratación de esta son aspectos que a menudo se descuidan, lo que expone al paciente a mayor riesgo para desarrollar infecciones en este tejido, lo cual puede ser agravado por los efectos nocivos de algunas enfermedades como la diabetes. Ensayos previos sugieren que la hiperglucemia y la disminución de la señal de insulina están implicadas en el deterioro de la función cutánea. Parece que la diabetes, similar a otros trastornos endocrinos, puede causar algunas complicaciones que pudieran derivarse de alteración del homeostasis de la piel (*Seirafi, 2009*).

Los costos de salud para las personas con diabetes son 2,3 veces mayores que la población no diabética (*Donald et al., 2014*). Se calcula que en 2014 la prevalencia mundial de la diabetes fue del 9% entre los adultos mayores de 18 años, según proyecciones de la OMS, la diabetes será la séptima causa de mortalidad en 2030 (*OMS, 2015*).

En los diabéticos existe una mayor producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS) y debilitamiento de las defensas antioxidantes responsables de la eliminación de los radicales libres (*Anu, 2014*) que son capaces de producir daño en distintos tejidos y contribuir al establecimiento de las complicaciones tardías de la diabetes (*Eshaq, 2014*), pueden atacar los dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados induciendo la lipoperoxidación, lo cual puede producir un mayor daño celular oxidativo. Sin embargo, tales daños pueden ser prevenidos o moderados por un sistema antioxidante (*Colucci, 2010*).

El Escualeno es un hidrocarburo alifático altamente insaturado y pertenece al grupo de aceites triterpenos, es un componente importante en productos para el cuidado de la piel (debido a sus propiedades fotoprotectoras y antioxidantes) y como lubricante industrial resistente a la oxidación.

El aceite de hígado de tiburón es la fuente natural más rica de Escualeno, el uso de esta fuente está representada por la presencia de diferentes contaminantes orgánicos persistentes (COP) en el ambiente marino, su uso en la industria farmacéutica puede plantear problemas debido a la posible presencia de diversos patógenos con los cuales los tiburones podrían infectarse y, por lo tanto, la infección se transmite a los humanos. La pesca intensiva de estos tiburones pone en peligro la existencia de estas especies, muchas de ellas cercanas a la extinción ya que su ciclo reproductivo es bastante largo y el crecimiento es lento.

Por estos motivos, hoy existe un gran interés en encontrar nuevas fuentes naturales de Escualeno, especialmente vegetales como el aceite de oliva, levadura, arroz, maíz, cacahuate, soja y destilado desodorante de aceite de oliva. Sin embargo, una fuente potencial de Escualeno es la semilla de amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***), porque su aceite contiene cantidades considerablemente más altas de Escualeno que otros aceites vegetales (Corke, 2010).

El amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***) es un cultivo de gran importancia en México, es nutritivo y barato (López-Mejía, 2014). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue diseñar la formulación de una emulsión tópica con capacidad antioxidante a partir de Escualeno extraído de semillas de amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***), con posible uso para pacientes diabéticos.

### Objetivo General

- Diseñar una emulsión tópica formulada a partir de semillas de amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***) con posible uso antidiabético.

### Objetivos Específicos

- Extraer Escualeno a partir de semillas de amaranto (***Amaranthus hypochondriacus***).
- Identificar algunos de los componentes de ***Amaranthus hypochondriacus*** principalmente el Escualeno.
- Obtener un producto farmacéutico estable.
- Realizar pruebas de control de calidad para la emulsión.
- Realizar pruebas fisicoquímicas requeridas para la estabilidad de la emulsión.

### Metodología

Se realizó la preparación del extracto de Escualeno mediante una extracción por Soxhlet a partir de semillas de ***Amaranthus hypochondriacus*** trituradas, utilizando hexano, mezcla hidroalcohólica y éter dietílico como disolventes, los cuales fueron evaporados utilizando un rotavapor.

Al extracto resultante se le realizó cromatografía en capa como ensayo de identidad, a fin de identificar la presencia de Escualeno, para ello fue comparado contra un estándar de Escualeno Sigma - Aldrich. El tamizaje fitoquímico fue realizado tanto a la semilla como al

extracto de Escualeno para determinar la presencia de metabolitos secundarios: cumarinas, saponinas, triterpenos, flavonoides, antocianinas, quinonas, taninos y alcaloides.

Los excipientes para la elaboración de la emulsión tópica de extracto de Escualeno, fueron seleccionados considerando sus propiedades fisicoquímicas y características para la formación de una emulsión W/O diseñada para su administración por vía tópica. Dicho producto farmacéutico se obtuvo mediante el método caliente.

Se obtuvo una emulsión aparentemente viscosa, sin partículas extrañas ni precipitado de aroma agradable característico del mentol, color blanco ligeramente amarillo, sin presencia de separación de fases y no irritante a la piel. Para verificar lo anterior se realizaron diversas pruebas fisicoquímicas: apariencia, prueba de irritabilidad en piel, viscosidad, prueba de centrifugación, determinación del pH y prueba de extensibilidad.

## Resultados

El mayor rendimiento de la extracción de aceite de Escualeno realizada con distintos disolventes como medios de extracción, se obtuvo a partir del éter etílico, seguido de la extracción con hexano y la realizada con mezcla hidroalcohólica, en donde se obtuvo un rendimiento del 50% comparado con el de éter etílico.

El tamizaje fitoquímico del extracto crudo y semillas de ***Amaranthus hypochondriacus*** evidenció gran diversidad de metabolitos bioactivos: triterpenos, flavonoides, taninos y alcaloides, así como la ausencia de cumarinas, saponinas y antocianinas.

El resultado obtenido en cromatografía en capa fina, sugiere que este ensayo es un método confiable para la identificación de Escualeno en las semillas de ***Amaranthus hypochondriacus*** y a su vez, denota que el método de extracción Soxhlet es adecuado para el aislamiento de Escualeno.

La selección de los componentes de un producto farmacéutico fue un punto crítico en la obtención de la emulsión W/O con las características deseables: con viscosidad adecuada, sin partículas extrañas ni precipitado, de aroma agradable característico del mentol, color blanco ligeramente amarillo, sin presencia de separación de fases y no irritante a la piel, dado que en el análisis fisicoquímico de la emulsión, se obtuvieron resultados de acuerdo a las especificaciones establecidas para cada una de las pruebas.

## Conclusión

Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que la extracción por Soxhlet es un método convencional para la obtención de aceite de Escualeno a partir de semillas de ***Amaranthus hypochondriacus***, especie que además de contener Escualeno, posee diversos metabolitos secundarios: triterpenos, flavonoides, taninos y alcaloides, de acuerdo con los resultados obtenidos.

Características como la apariencia, pH, viscosidad, ausencia de separación de fases y extensibilidad le atribuyen Calidad y estabilidad al producto farmacéutico, por lo que se considera de suma importancia realizar pruebas y ensayos para su determinación.

El Escualeno es un compuesto que, en combinación con los excipientes y seleccionando un proceso adecuado, permite obtener una emulsión tópica O/W con características óptimas como para el uso en pacientes, particularmente los que padecen diabetes y presentan complicaciones en la piel.

## Referencias del Resumen

- ANU RAHAL A, Amit Kumar A, Vivek Singh V, Brijesh Yadav B, Ruchi Tiwari R, et al. *Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay*. BioMed . 1-19. 2014.
- COLUCCI R, Currià M. *Diabetes mellitus, hemoglobina glicosilada y stress oxidativo*. Buenos Aires: Orthomolecular; 2010.
- CORKE H. y H.-P. He, *Oil and Squalene in Amaranthus Grain and Leaf*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 51, no. 27, pp. 7913–7920, 2003.
- DONALD E., Mrdjenovich. *Use of Topical Small Molecule Technology to Improve Patient Outcomes in the Diabetic Wound Care Setting*. Journal of the American College of Clinical Wound Specialists; 5: 40–4. 2014.
- ESHAQ RS, Wright WS, Harris NR. *Oxygen delivery, consumption, and conversion to reactive oxygen species in experimental models of diabetic retinopathy*. Redox Biol. 2: 661-666. 2014.
- LÓPEZ-MEJÍA A, López-Malo A, Palou E. *Capacidad antioxidante de subproductos de semillas de amaranto (Amaranthus hypochondriacus)*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 64. 2014.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/diabetes> <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/> (Fecha de consulta:12-Septiembre-2016)
- SEIRAFI H, K. Farsinejad , A. Firooz , SM Davoudi , RM Robati , MS Hoseini , AH Ehsani , B. *Sadr Biophysical characteristics of skin in diabetes: a controlled study*. J Eur Acad Dermatol Venereol, 23 ( 2 ), págs. 146 – 149. 2009.

**VISTO BUENO DEL ASESOR**

---

M. en C. Francisco López Naranjo