

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS  
DEPARTAMENTO FARMACIA

*Trabajo de Diploma en opción al título de  
Licenciatura en Ciencias  
Farmacéuticas*

Estabilidad preliminar físico-química y  
microbiológica de un champú de hojas de  
*Azadirachta indica* A. Juss.

Autora: Daniela Rodríguez Vega

Tutor: Dr.C. Jesús García Díaz, Instructor

Asesores: MSc. Yamilé Heredia Díaz, Prof. Auxiliar  
Lic. Alexei Simón Aguiar  
MSc. Daily Arias Ramos, Instructor

Curso: 2019-2020

Santiago de Cuba

Pensamiento



*PENSAMIENTO*

*“...Y el único camino abierto a la prosperidad constante y fácil es el de conocer, cultivar y aprovechar los elementos inagotables e infatigables de la naturaleza”.*

*Maestros Ambulantes. La América Nueva York, mayo 1884. OC. T 8 p. 289- 290*

# Dedicatoria



## *DEDICATORIA*

*A mis padres por ser los máximos inspiradores de mis estudios  
y en especial, a mi Soe porque ha constituido mi apoyo espiritual  
y haber sido siempre mi ejemplo a seguir.*

# Agradecimientos



## AGRADECIMIENTOS

*Una aspiración que se concreta, el ser una profesional. Una meta que se logra y un reto para nuevos desempeños. La satisfacción alcanzada gracias al apoyo incondicional de muchas personas que me han acompañado en este bregar, en tiempos buenos y no tanto, pero han estado ahí junto a mí.*

*A mi familia, por su cariño y comprensión*

*A Juan José y familia, sin cuyo aliento no hubiera resultado este trabajo*

*A mi tutor, DrC. Jesús García Díaz, llegue mi infinito agradecimiento, no sólo por ofrecerme sus valiosos conocimientos y experiencia profesional, sino también por animarme y alentarme en cada una de las fases de la investigación. Gracias por confiar en mí.*

*A la Universidad de Oriente por su contribución a mi formación.*

*A todos, muchas gracias.*

# Resumen





---

---

## RESUMEN

La pediculosis es una de las enfermedades más comunes que afectan al cabello. El uso de champús medicinales a base de plantas se ha convertido en una alternativa para tratar dicha afección. En la presente investigación se realiza un estudio de estabilidad físico-química y microbiológica de vida de estante a temperatura ambiente del champú de hojas de *A. indica*. Se realizaron cuatros lotes del champú en la Empresa LABIOFAM Mayarí, Holguín. Se determinaron los parámetros de calidad físico-químicos y microbiológico correspondientes y se evaluó la estabilidad a tiempo 0, 7 y 15 días. Los controles de calidad mostraron que el champú presenta un color ámbar pardo oscuro, olor agradable, apariencia homogénea, sin grumos y transparencia clara; pH 6,03–6,49 sólidos totales 6,06–7,13 %, densidad relativa 1,0141–1,0171, viscosidad 2,2–2,48 cSt, altura y estabilidad de la espuma 200–205 mL. El ensayo microbiológico demostró el cumplimiento de los parámetros para productos no estériles. La evaluación de la estabilidad demostró que la viscosidad y la altura de la espuma tienen un comportamiento ligeramente diferente que lo observado para el t0, mientras que los restantes parámetros físico-químicos se mantuvieron estable durante 15 días así como la calidad microbiológica. Estos resultados sientan la base para el desarrollo de un champú medicinal con extracto hidroalcohólico de hojas de nim para tratar la pediculosis en humanos.

# Abstract



**ABSTRACT**

Pediculosis is one of the most common diseases that affects the hair. The use of herbal medicinal shampoos is an alternative to treat this ailment. A study of the physical-chemical and microbiological stability of shelf life at room temperature of a shampoo from *A. indica* leaves was performed. Four batches of herbal shampoo were formulated at the LABIOFAM Mayarí Company, Holguín. The physical-chemical and microbiological quality parameters according to formulation were determined and the stability at 0, 7 and 15 days was evaluated. Quality controls showed that the shampoo has a dark brown amber color, pleasant odor, homogeneous appearance, no lumps and clear transparency; pH 6.03–6.49 total solids 6.06–7.13%, relative density 1.0141–1.0171, viscosity 2.2–2.48 cSt, height and stability of the foam 200–205 mL. The microbiological assay demonstrated the compliance of the parameters for non-sterile products. The stability evaluation showed that the viscosity and the height of the foam had a behavior slightly differently for t15, while the other physical-chemical parameters remained stable for 15 days, as well as the microbiological quality. These results provide valuable information for the development of a medicinal shampoo with hydroalcoholic extract of neem leaves to treat pediculosis in humans being.

# Índice



<b>Índice</b>	<b>pág.</b>
<b>Introducción</b>	<b>1</b>
Problema Científico	<b>3</b>
Hipótesis	<b>4</b>
Objetivo general	<b>4</b>
Objetivos específicos	<b>4</b>
<b>Capítulo I. Revisión bibliográfica</b>	<b>5</b>
I.1. Especie <i>Azadirachta indica</i> A. Juss. Generalidades	<b>5</b>
I.1.1. Clasificación taxonómica	<b>5</b>
I.1.2. Descripción botánica de la especie	<b>6</b>
I.1.3. Habitación y distribución	<b>7</b>
I.2. Uso tradicional y propiedades terapéuticas atribuidas a la especie.	<b>9</b>
I.3. Composición fitoquímica de la especie	<b>11</b>
I.4. Antecedentes de actividad farmacológica y biológica demostrada ( <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> )	<b>14</b>
I.5. Antecedentes toxicológicos de la especie	<b>20</b>
I.6. Estudios clínicos de la especie	<b>20</b>
I.7. Enfermedades del cuero cabelludo	<b>21</b>
I.8. Champú: Generalidades.	<b>23</b>
I.8.1. Componentes del champú	<b>25</b>
I.8.2. Parámetros de calidad del champú medicinal	<b>26</b>
I.9. Estudio de estabilidad: generalidades	<b>27</b>
I.9.1 Factores que pueden influir en un estudio de estabilidad	<b>28</b>
<b>Capítulo II. Materiales y Métodos</b>	<b>30</b>
I Características generales de la investigación	<b>30</b>
II Recolección y procesamiento del material vegetal	<b>30</b>
III Obtención del extracto de hidroalcohólico de las hojas de <i>A. indica</i>	<b>30</b>
IV Formulación y obtención del champú a partir del extracto de hojas de <i>A. indica</i>	<b>31</b>
V Estabilidad físico-química del champú	<b>31</b>
V.1 Determinación de características organolépticas	<b>32</b>
V.2 Determinación de pH	<b>32</b>
V.3 Determinación de sólidos totales	<b>32</b>
V.4 Determinación de la densidad relativa	<b>33</b>
V.5 Determinación de la viscosidad	<b>34</b>
V.6 Altura y estabilidad de la espuma	<b>35</b>
VI Estabilidad microbiológica del champú	<b>35</b>
VII Análisis y procesamiento de los resultados	<b>36</b>
<b>Capítulo III. Resultados y Discusión</b>	<b>37</b>
III.1. Determinación de los parámetros de calidad físico-química del champú de hojas de <i>A. indica</i>	<b>37</b>
III.1.2. Parámetros físico-químico	<b>37</b>

---

III.1.2.1.	Características organolépticas	38
III.1.2.2.	pH	39
III.1.2.3.	Sólidos totales	40
III.1.2.4.	Densidad relativa	41
III.1.2.5.	Viscosidad	42
III.1.2.6.	Altura y estabilidad de la espuma	42
III.3.	Determinación de la calidad microbiológica del champú de hojas de <i>A. indica</i>	43
III.4.	Evaluación de la estabilidad del champú de hojas de <i>A. indica</i>	44
III.4.1.	Estabilidad físico-química	44
III. 4.1.1	Características organolépticas	44
III. 4.1.2	pH	45
III. 4.1.3	Sólidos totales	47
III. 4.1.4	Densidad relativa	47
III. 4.1.5	Viscosidad	49
III. 4.1.6	Altura y estabilidad de la espuma	50
III.4.2.	Estabilidad microbiológica	50
<b>Conclusiones</b>		<b>52</b>
<b>Recomendaciones</b>		<b>53</b>
<b>Referencias Bibliográficas</b>		
<b>Anexos</b>		

# Introducción



---

## INTRODUCCIÓN

El pelo se considera uno de los anexos más importantes de la piel ya que la cubre casi en su totalidad. Cuenta con múltiples funciones, entre las que destacan: protección en contra de elementos externos, dispersión de productos provenientes de las glándulas sebáceas, funciones sensitivas, así como aquellas de importancia psicosocial. Tan importante como el cuidado del cabello es la atención que se le debe dar a la piel de donde este nace, ya que puede verse afectada por problemas tan comunes como la pediculosis o complejos como la psoriasis.<sup>1-3</sup>

Las enfermedades del cuero cabelludo son aquellas que se adquieren a causa de gérmenes y otros microorganismos que afectan la corteza donde nace el cabello y pueden provocar además otros trastornos, ya sean emocionales o físicos. Este, como cualquier parte del cuerpo humano, es propenso a padecer algunas dolencias, que si no se atienden a tiempo y de la forma adecuada pueden complicarse. Dentro de las más frecuentes y contagiosa esta la pediculosis.<sup>4,5</sup>

Los agentes responsables de dicha afección se encuentran en dos formas: la liendre y el piojo. Los piojos (*Pediculus humanus capitis*) son unos insectos que miden entre dos y tres milímetros que pueden aparecer en el pelo de la cabeza, las cejas o las pestañas. Los piojos depositan sus huevos, conocidos como liendres, que se adhieren al cabello mostrando una forma parecida a la de la caspa y son difíciles de eliminar. Una vez asentados, sobreviven alimentándose de sangre que extraen del cuero cabelludo. Estos se propagan con más frecuencia entre los niños y pueden causar picores en la cabeza o la aparición de pequeñas protuberancias rojas en el cuero cabelludo.<sup>6,7</sup>

Antes estos padecimientos la industria cosmética y farmacéutica han desarrollado productos para darle solución, es por ello que hoy en día, en el mercado existe una numerosa cantidad de productos cosmecéticos creados de forma especial para tratar la seborrea y la pediculosis. Estos forman parte de la vida cotidiana, desde el punto de vista higiénico, estético y medicinal.<sup>8</sup> Entre los cosmecéticos capilares se encuentra el champú cuya principal función es la limpieza del cabello y el cuero cabelludo. También están las



diversas formulaciones de champú que unido a dichas funciones son utilizadas para tratar la seborrea, la pediculosis y la alopecia.<sup>9</sup>

En la actualidad, hay una gran diversidad de plantas que tienen efectos beneficiosos sobre el cabello y comúnmente utilizadas en champús por su contenido de vitaminas, aminoácidos, azúcares, glucósidos, fitohormonas, bioflavonoides, ácidos de frutas y aceites esenciales.<sup>2,6,10</sup> Este es el caso del *Cymbopogon nardos* (citronela), la *Quassia amara* (cuasia), *Aloe vera* (sábila) y las hojas de *Olea europaea* (oliva) muy utilizadas principalmente por sus aceites esenciales.

Dentro de las especies vegetales empleadas en formulaciones de champú medicinales se encuentra además la *Azadirachta indica* A. Juss., conocida comúnmente como nim.<sup>2</sup> *A.indica*, es un árbol de la familia Meliaceae, que crece en forma prolífera en la India y en zonas tropicales y subtropicales.<sup>11</sup> Los usos medicinales de este árbol se remontan a miles de años de antigüedad. Dichos atributos medicinales van desde sus efectos contra ciertos insectos o parásitos incluyendo los gusanos del intestino, hasta padecimientos tan graves como la lepra pasando por diversos tipos de dolencias de la piel, inflamación, problemas urinarios, dolores articulares, inducción del parto y lactancia o como antídoto de la mordedura de la víbora de *Russell* entre muchas otras aplicaciones.<sup>12-14</sup>

Las disímiles propiedades biológicas demostradas para esta planta es muestra de la gran diversidad de compuestos químicos presentes. En la literatura se reportan más de 140 componentes activos con diversidad estructural, aislados de diferentes partes del árbol del nim.<sup>15,16</sup> La azaridactina (del grupo de los tetraidroterpenoides conocidos como limonoides), es uno de los dos principios biocidas más estudiados y de mayor concentración en el árbol. Este compuesto se considera un fitotóxico de amplio espectro, de bajo efecto residual, sin toxicidad para los seres humanos y el medio ambiente. Otro de los compuestos bioactivos son la salanina y la nimbina que pueden usarse para el desarrollo de productos. De sus semillas y hojas se extrae su aceite esencial el cual tiene numerosas aplicaciones.<sup>17</sup>

La *A. indica* es probablemente la especie botánica más estudiada en la actualidad, por su alta eficiencia como repelente o plaguicida. Se han aislado aproximadamente otros 24 principios activos con actividad biológica sobre artrópodos. En las semillas se han identificado además salanina, meliantriol, nimbina, nimocinólida e isonimocinólida, con probable actividad anti-alimentaria, de inhibición del crecimiento y de la oviposición.<sup>18</sup> Grupos de investigadores británicos encontraron que una de las moléculas que son parte del extracto de nim y que tienen efecto contra los insectos es la azadiractina. Actualmente se han descrito otras moléculas que actúan contra los insectos plaga, entre los que se incluyen los piojos. Tales sustancias son el meliantrol y la salanina, que contienen además propiedades antifúngicas, antibacterianas y purificantes por lo que se utiliza ampliamente para tratar diversas afecciones tópicas como la caspa o los picores del cuero cabelludo.<sup>14,15-20</sup>

En consecuencia, existen reporte de champús a base de extracto de *A. indica* a partir de sus hojas como ingrediente activo para tratar la pediculosis. En Cuba, en la bibliografía consultada no se informan de estudios sobre formulaciones a base de nim. No obstante en el Departamento de Farmacia de la Universidad de Oriente se han realizado investigaciones sobre las hojas de este árbol partiendo de sus potencialidades para el desarrollo de nuevos productos naturales.<sup>20-22</sup>

El Grupo Empresarial Laboratorio Biológicos Farmacéuticos LABIOFAM, entidad cubana dedicada al desarrollo y producción de medicamentos en sus inicios, ha extendido una amplia gama de productos ante los cambios de la economía mundial y los altibajos del comercio internacional. En tal sentido se ha diseñado una estrategia de diversificación, desarrollando las bases para otras producciones como plaguicidas biológicos, productos para la higiene, suplementos dietéticos de origen natural y alimentos.<sup>23</sup>

La Unidad Empresarial Básica (UEB) perteneciente a esta empresa, ubicada en el municipio de Mayarí entre su cartera de desarrollo e investigación de nuevos productos se encuentra: el champú de nim, el cual tiene como ingrediente activo el extracto obtenido a partir de sus hojas. Este producto aún no cuenta con estudios suficientes que permitan su

introducción y comercialización para el tratamiento de la pediculosis. Atendiendo a estos antecedentes la presente investigación se plantea como problema científico:

**Problema científico:** La ausencia de estudios de estabilidad físico-química y microbiológica del champú a partir de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss., no permiten comprobar su calidad en el tiempo para ser empleado como pediculicida en uso humano.

**Hipótesis:** Si el champú a partir de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss. mantiene su estabilidad físico-química y microbiológica en 15 días se podrá contar con las primeras evidencias para su posterior comercialización como champú pediculicida para uso humano.

**Objetivo general:** Evaluar la estabilidad físico-química y microbiológica del champú de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss., a temperatura ambiente por un período de 15 días.

**Objetivos específicos:**

1. Determinar los parámetros de calidad físico-química y microbiológica del champú de hojas de *A. indica* a tiempos 0, 7, y 15 días.
2. Evaluar la estabilidad físico-química y microbiológica del champú de hojas de *A. indica* a tiempos 0, 7 y 15 días.

# Capítulo I



## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### I.1.-Especie *Azadirachta indica* A. Juss. Generalidades

*Azadirachta indica* A. Juss más conocido como el árbol de nim pertenece a la familia Meliaceae y es nativo de la India y naturalizado en la mayor parte de países tropicales y subtropicales. Se encuentra en Bangladesh, Pakistán y Nepal.<sup>16,24</sup> Es reconocido por una variedad de nombres, como, lila india (inglés), azadirakhta (persa), margosa y neeb (árabe), tamar (birmano), kohomba (cingalés) y otros.<sup>19</sup>

El uso del nim se remonta a 4 500 años de antigüedad, su utilización comenzó en la antigua India y las naciones vecinas, donde fue adorado durante largo tiempo por las propiedades medicinales que este aporta. Es una planta cuyas partes tienen múltiples usos, en la medicina veterinaria, agricultura, la salud humana, de ahí que muchas creencias religiosas motivadas por el cual ha sido considerado como "el árbol del siglo XXI".<sup>25</sup>

Su principal utilidad está centrada en el plano agrícola debido a la diversidad de propiedades que brinda para combatir las plagas e insectos, utilizando métodos naturales de forma ecológica como el abono, evitando daños al medio ambiente.<sup>26</sup> Es uno de los campos más investigados por científicos de todo el mundo. Ejemplo de esto, es su empleo para reforestar terrenos erosionados o desérticos debido a su capacidad para crecer en diferentes tipos de suelos, pobres en nutrientes, con un amplio rango de pH y en zonas cálidas y bajas desde el nivel del mar. Según cita Ledesma y Ledesma, 2012; en Ecuador se introdujo en la provincia de Manabí en 1978 a través de semillas provenientes de Nigeria como especie forestal para la reforestación de las zonas secas de esta provincia.<sup>27</sup>

#### I.1.1 Clasificación taxonómica

**Orden:** Rutales

**Suborden:** Rutinae

**Familia:** Meliaceae

**Subfamilia:** Melioidae

**Tribu:** Melieae

**Género:** *Azadirachta*

**Especie:** *Azadirachta indica* A. Juss<sup>16,24-25,27</sup>



### I.1.2 Descripción botánica de la especie

El árbol del nim, es de un porte que varía entre 10 a 20 m de altura y raramente 35 a 40 metros de hoja perenne (**Figura 1**), robusta, siempre verde, corteza gruesa y copa redonda, que alcanza una altura de 30 metros en su etapa adulta, con un diámetro de copa de hasta 10 metros. Su tronco es corto, recto y puede alcanzar 1,2 metros de diámetro. Posee una corteza de color gris, o gris oscura, áspera, café rojiza en su interior, con ramas laterales que pueden superar los 2,5 m. Logra su máxima producción de frutos a los 10 años y llegan a vivir más de 100 años. El árbol siempre verde, excepto en las áreas susceptibles a las heladas y las sequías.<sup>28</sup>

Las hojas son de tipo imparipinnadas, compuestas de 11 a 20 foliolos colocados de manera opuesta uno al lado del otro a lo largo del nervio central (**Figura 1**), aserrados, de color verde claro o intenso en dependencia de las condiciones ecológicas del lugar donde se establezca, se mantiene verde en gran parte del año con desprendimiento generalizado de las hojas secas durante la época de seca.<sup>28</sup>

Las flores son blancas o amarillo-pálido (**Figura 1**), pequeñas, olorosas, numerosas en largas panículas axilares, hermafroditas con anteras y estambres unidos en un tubo único y pistilo con ovario súpero, de pétalos blancos, amarillo-pálidos o color crema, están dispuestas axialmente en racimos de hasta 20 cm de largo. Se encuentran insertadas en un pedúnculo floral corto con sépalos verdes claro.<sup>29</sup>



**Figura 1.** Árbol de *Azadirachta indica* A. Juss (**A:** árbol del nim, **B:** hojas, **C:** flores, **D:** fruto)

El fruto tiene forma de pequeñas drupas y es de color verde claro durante su desarrollo (**Figura 1**), este es jugoso y dulce, consumible por los humanos, animales y aves, además encierra la semilla. Progresivamente se torna hasta amarillo en la madurez, aromático, oblongo u ovoideoblongo, de 1,3 a 1,8 cm de largo, con una sola semilla exalbuminosa, presentándose la maduración de los frutos de abril a agosto, dependiendo de la ubicación geográfica. La fruta madura es pulposa y posee una cutícula fina que se desprende fácilmente, esta puede pesar entre 1 a 1,8 g y contiene una sola semilla de forma alargada y redondeada, de color blanco cuando está seca.<sup>30</sup>

El sistema radicular de la planta está compuesto por la raíz pivotante, que constituye su principal sostén y elemento capaz de encontrar agua a profundidades considerables, y la raíces laterales que facilitan la nutrición y estabilidad del anclaje, su desarrollo se ve afectado con un mal drenaje del suelo.<sup>31</sup>

### **I.1.3 Hábitat y distribución.**

El nim es un árbol que se encuentra en varias regiones del mundo como América, África y Asia (**Figura 2**). Se desarrolla en diferentes tipos de suelo, pero sobrevive mejor en sustratos bien drenados, profundos y arenosos con un pH de 6,2 a 7,0. Se localiza en regiones con una temperatura anual de entre 21 y 32 °C, Sin embargo soporta altas temperaturas y no sobrevive a 4 °C porque se deshoja y puede morir.<sup>32</sup>

Es oriundo de zonas tropicales, crece tanto en el trópico húmedo como seco, no obstante es en este último es en el que encuentra mejores condiciones, esencialmente las ubicadas en el área que baña el Océano Pacífico.<sup>31,32</sup>

El nim es nativo del subcontinente indo-pakistano, Segelman DF y Segelman AB señalan que en la India puede haber un total de 25 millones de árboles, los que se localizan en un largo cinturón que se extiende hacia el sur desde Delhi y Lahore, hasta Cabo Camorin. En el sur de Asia se encuentra en Bangladesh, Birmania y en las partes secas del Sri Lanka.<sup>31</sup>

En el sureste de Asia está de manera dispersa en Tailandia, sur de Malasia, y en las islas de Indonesia al Este de Java. En las Filipinas se estableció en un programa que cubre 40 000 hectáreas de bosque. También se halla en las planicies del norte de Yemen y se introdujo a

Arabia Saudita. En África se distribuye en Nigeria y Sudán; y en la costa del este, desde Etiopía, pasando por Somalia, Kenya, Tanzania y Mozambique, además en el oeste de África está en Mauritania, Togo, Costa de Marfil y Camerún.<sup>31</sup>

En la región del Caribe, se naturalizó posterior a su introducción como un árbol de sombra y ornamento. Esta especie fue introducida en Estados Unidos de Norteamérica, el sur de la Florida, Arizona y en la península de Baja California y en varios países sudamericanos como: Argentina, Brasil, y Chile; así como centroamericanos (Nicaragua y Honduras) y del caribe: Haití, antigua Surinam, Islas Vírgenes, Cuba y Puerto Rico, las Islas Vírgenes Británicas.<sup>31-33,34</sup>

En Cuba, se introdujo a través de la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas, por el sabio cubano Dr. Juan Tomás Roig en la primera década del siglo XX en el año 1906 y generalizado en todo el país en 1990 por el Dr. Jesús Estrada Ortiz, investigador del Instituto Nacional para la Investigación Fundamental en la Agricultura del Trópico “Alejandro de Humboldt” (INIFAT).<sup>35</sup>



**Figura 2.** Mapa de distribución geográfica de *Azadirachta indica* A. Juss (nim) (los puntos en rojos indican la presencia del árbol del nim). (Tomada de Bin M.; 2011)



## **I.2. Uso tradicional y propiedades terapéuticas atribuidas a la especie.**

Son múltiples los usos tradicionales de la planta del nim por sus propiedades medicinales y que datan de muchos años atrás. Se ha reconocido el uso de la flor para la prevención y tratamiento de trastornos biliares, la hoja para úlceras y la corteza para el sistema nervioso central, en casos de parálisis y trastornos psiquiátricos.<sup>15</sup>

El nim se ha utilizado contra la malaria, como antipalúdico y contra la tuberculosis en Nigeria e India. En algunas partes de Asia se utiliza como elemento disuasorio para la viruela y otras enfermedades infecciosas, también para problemas del tracto urinario, lepra, problemas gastrointestinales, enfermedades parasitarias (malaria), de transmisión sexual y como antifúngico. Según citan pobladores en la India, la planta posee potencial para alejar el mal espíritu.<sup>15,32,36,37</sup>

En pueblos del antiguo Oriente se ha utilizado como tónico para el aborto, así como los problemas de cabello, diabetes, presión arterial, colesterol, úlceras gastrointestinales, enfermedades de la piel (en forma de cremas) como la psoriasis y la tiña. También los emplean como enjuagues bucales ya que elimina los gérmenes, mantiene los microorganismos bajo control, tiene acción sobre las encías inflamadas y conserva los dientes blancos. Sus efectos como inhibidor de la coagulación justifica su uso en el tratamiento de mordeduras de serpientes.<sup>36,38</sup>

Los estudios realizados en 2005 por Subapriya R y Nagini S del extracto de las hojas y cortezas de *A. indica* revelaron que esta posee propiedades antioxidantes significativas al igual que sus extractos a base de las flores, tallos y frutos. Además de jugar un papel importante en la prevención del cáncer de colon, estómago, Carcinoma de Ehrlich, pulmón, hígado, piel, próstata y mama. Los compuestos activos aislados de sus hojas muestran actividad antiinflamatoria y gran efecto curativo de heridas. El extracto hidroalcohólico de la corteza de la raíz ha mostrado cambios en los niveles de glucosa por lo que muchas personas lo utilizan como un antidiabético natural.<sup>13,16,19</sup>

En el sistema cardiovascular actúa reduciendo la presión sanguínea, el colesterol y las irregularidades cardíacas. Se ha comprobado, de igual manera, su efecto en el tratamiento

del acné, debido a sus propiedades antibacterianas y antiinflamatorias. En la piel productos derivados del nim contribuye a equilibrar sus niveles de grasa.<sup>13</sup>

Las flores de nim se pueden emplear frescas, secas o en polvo, generalmente en el sur de la India para cocinar varios platos: flores en arroz, pachadi, rasam y lentejas. Con frecuencia se secan a fuego lento y se rocían sobre el plato para embellecer. De las flores se extrae un aceite que contiene numerosos flavonoides, que protegen al organismo de los daños producidos por sustancias o elementos oxidantes, se utilizan para prevenir enfermedades coronarias, también como astringentes y expectorantes.<sup>39</sup>

En algunos estados del sur de la India las hojas tienen gran uso en la agricultura como abono orgánico en los campos de tabaco y tomate, además lo emplean para eliminar malezas mediante la propagación sobre las raíces de las plantas, así como insecticida para proteger la lana y la seda almacenadas de plagas de insectos.<sup>36,39,40</sup>

En Indonesia, las hojas de nim se utilizan como diurético y para tratar la diabetes, la anorexia, el dolor de cabeza, la acidez estomacal y como estimulante del apetito. El consumo de las hojas en infusión fortalece el sistema inmunitario, protegiéndolo contra gripes y resfriados.<sup>40</sup>

Los extractos de hojas de nim contienen compuestos similares a las hormonas que interfieren en el ciclo de vida de parásitos externos como los piojos y los ácaros de la sarna debido a que inhibe la capacidad que poseen los parásitos de alimentarse y poner sus huevos para la reproducción.<sup>13,40</sup>

La corteza es fuente de numerosos principios activos lo que permite que sea utilizada para la prevención de las caries y enfermedades bucodentales como hongos, gingivitis, piorrea, aftas, encías inflamadas y sangrantes, así como también para curar heridas y enfermedades relacionadas con la piel.<sup>34,38</sup>

La propiedad más importante del nim es que revitaliza el sistema inmunológico a todos los niveles y ayuda al cuerpo a combatir infecciones antes incluso de la respuesta del sistema inmunológico, también estimula la producción de células-T para crear una línea de ataque contra las infecciones.<sup>34</sup>

En Cuba, principalmente en la zona del oriente es utilizada por sus pobladores en forma de infusión para los trastornos gástricos, que incluye las úlceras gástricas y duodenales así como por su actividad antiviral, contra la fiebre, como pectoral aromático y cefálico. El cocimiento de la planta es empleado en el tratamiento de las hemorragias femeninas.<sup>34</sup>

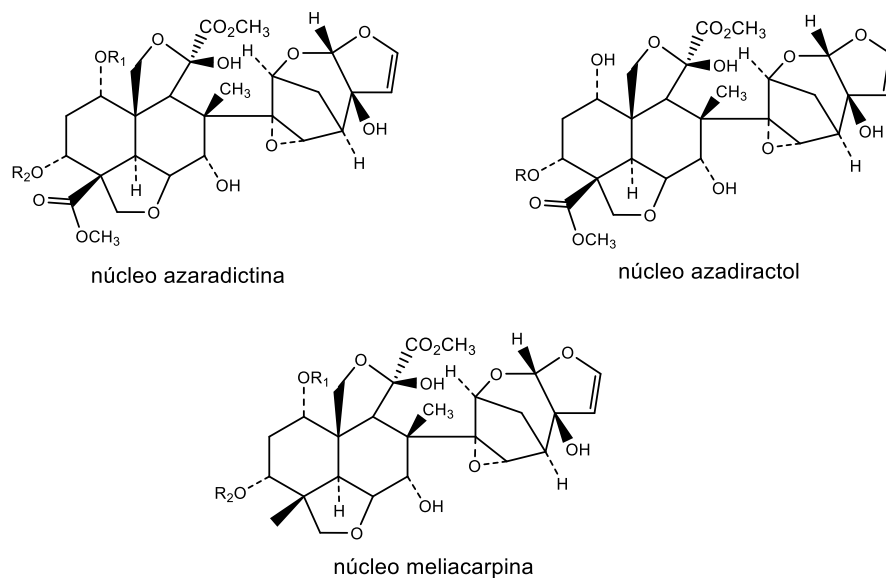
### I.3. Composición fitoquímica de la especie

*A. indica* contiene una amplia diversidad de metabolitos a los que se les confieren muchas de sus propiedades terapéuticas. Se han aislado de diferentes partes del nim más de 140 sustancias activas que son químicamente diversas y estructuralmente complejas. De forma general los compuestos han sido divididos en dos clases principales: isoprenoides y no isoprenoides, siendo los primeros de gran relevancia como los diterpenoides, triterpenoides, compuestos tipo vilasinina, limonoides y sus derivados. Entre los compuestos no terpenoides destacan los hidrocarburos, ácidos grasos, esteroides, fenoles, flavonoides y otros.<sup>12</sup>

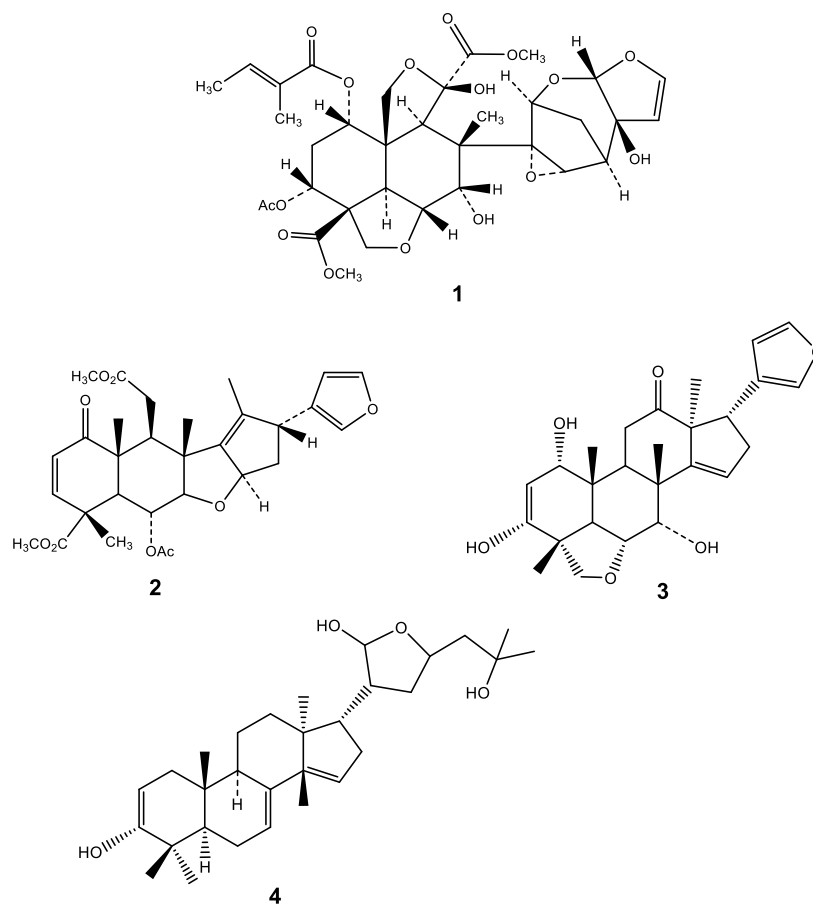
Dentro de los compuestos más estudiados presentes en la planta están los tetranortriterpenoides oxidados, que se agrupan por su núcleo estructural en azadiractoles, azaradictinas y meliacarpinas (**Figura 3**). Para esta especie más de 100 compuesto de esta clase química han sido aislados, reportándose como mayoritario el limonoide azadiractina (**1**). También se reportan otros como: nimbolinin, nimbin (**2**), nimbidin (**3**), nimbidol, nimbinato de sodio, gedunin, salannin y meliantriol (**4**). Las estructuras de algunos de estos compuestos se muestran en la Figura 4.<sup>12</sup>

El aceite obtenido de las semillas del nim es muy utilizado en la actualidad por sus propiedades insecticidas. En el mismo se han identificado compuestos como los ácidos laúrico (**5**) y mirístico (**6**) (**Figura 5**) que brinda a la planta su fragancia, así como la azaradictina, nimbin, nimbidin, nimbidol, nimbinato de sodio, gedunin (**7**) (**Figura 5**), salannin, diversos compuestos sulfurados, y otros constituyentes.<sup>20,21,24</sup>

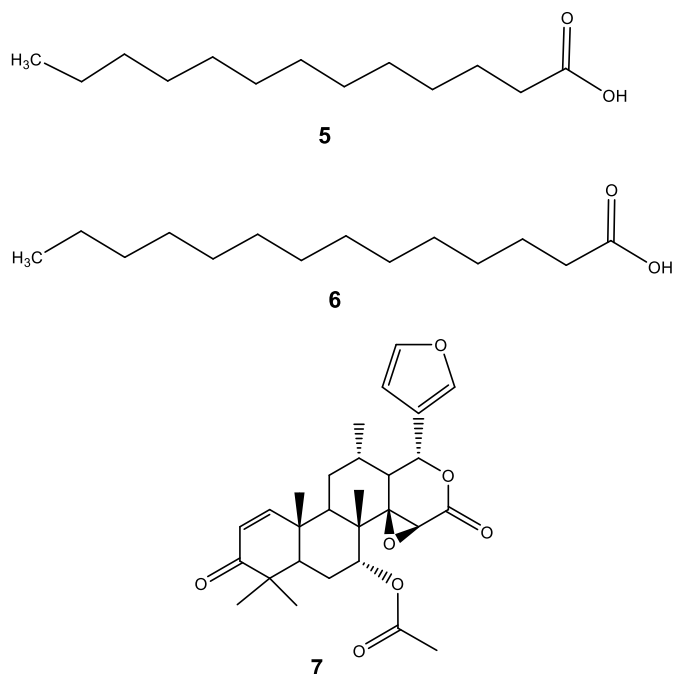
De las hojas frescas también se ha obtenido aceite esencial con 0,13 por ciento de rendimiento. Además, se han purificados grupo de alcanos de entre 14 y 31 carbonos, aminoácidos y ácidos grasos, lo que contienen propiedades antibacterianos y antifúngicas.



**Figura 3.** Núcleos estructurales de tetranortriterpenoides oxidados aislados de *A. indica*

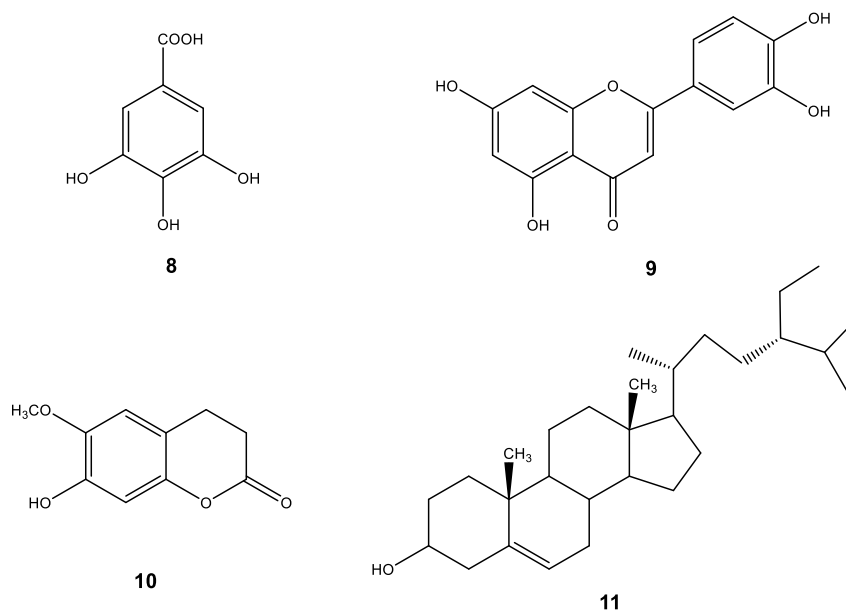


**Figura 4.** Compuestos de naturaleza terpenoide aislados de *A. indica*



**Figura 5.** Compuestos detectados en el aceite extraído de *A. indica*

Como compuestos no terpenoides (**Figura 6**), de las diferentes partes de esta planta se han reportado el aislamiento de: fenoles como el ácido gálico (**8**), flavonoides como la quercetina (**9**), cumarinas como la escopoletina (**10**), taninos, esteroides ( $\beta$ -sitosterol (**11**), y estigmasterol), saponinas, mucílagos, compuestos amargos y alcaloides.<sup>24</sup>



**Figura 6.** Otros compuestos aislados de *A. indica*

#### **I.4 Antecedentes de actividad farmacológica y biológica demostrada (*in vitro* e *in vivo*)**

El árbol del nim presenta una rica tradición medicinal, por la cual numerosos estudios *in vitro* e *in vivo* sobre las diferentes partes han sido conducidos durante muchos años revelando el amplio potencial biológico y farmacológico de esta especie. Son numerosos los efectos farmacológicos demostrados entre los que se destacan: antimicrobiano, antioxidante, anticancerígeno, antiinflamatorio, analgésico, antipirético, e inmunoestimulante.<sup>16,41</sup>

##### Actividad antimicrobiana

El nim y sus compuestos activos juegan un rol en la inhibición del crecimiento de numerosos microorganismos tales como bacterias, hongos, parásitos y virus.

Extractos de hojas han mostrado efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Vibrio cholerae*, *Klebsiella pneumoniae*, *M. tuberculosis* y *M. pyogenes*.<sup>13</sup> Un extracto acuoso de las hojas mostró ser activo sobre *Bacteroides gingivalis*, *B. intermedius*, *Streptococcus salivarius* y *S. viridans* a varias concentraciones en un ensayo *in vitro*.<sup>42</sup> En otro estudio fueron evaluados los extractos de hexano, cloroformo y de metanol sobre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus faecalis*. Los resultados revelaron que el extracto de metanol fue el más efectivos, seguido del cloroformo y hexano.<sup>43</sup>

El aceite obtenido de las hojas es reconocido por sus efectos antibacterianos de amplio espectro, incluyendo cepas resistentes a antibióticos.<sup>13,42</sup> La quercetina y el  $\beta$ -sitosterol fueron los primeros compuestos fenólicos aislados de las hojas a los cuales se le ha demostrado su actividad antibacteriana y antifúngica.<sup>16</sup> También otros compuestos como el mahmoodin, un limonoide aislado mostró un significativo efecto sobre el crecimiento de bacterias.<sup>13</sup>

En la literatura consultada se plantea que los extractos de diferentes partes de esta especie medicinal presentan una elevada actividad antifúngica. Por ejemplo, extractos de hojas ha mostrado efectividad contra ciertos hongos patógenos de los géneros *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Trichosporon*, *Geotricum* y *Candida*.<sup>13</sup> En

otro estudio un extracto acuoso de las hojas inhibió la germinación de esporas de tres hongos: *C. lunata*, *H. penniseti*, y *C. gloeosporioides*. f. sp. *mangiferae*. También se informa la actividad de una fracción de acetato de etilo, que inhibió el crecimiento a una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 0,19 mg siendo más efectivo que el control positivo.<sup>16</sup>

Mahmood D.A y colaboradores en 2011 informan la actividad antifúngica *in vitro* de varios extractos de la hojas contra importante patógenos humanos: *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus niger*, y *Microsporum gypseum*. Se observó un efecto inhibitorio de los extractos sobre el crecimiento con un comportamiento concentración dependiente.<sup>44</sup> La actividad antifúngica de esta especie se le asocia a los compuestos volátiles azufrados presentes en el aceite y al limonoide gedunin.<sup>13,41</sup>

Un extracto acuoso y etanólico obtenido de las hojas de *A. indica* mostraron inhibición *in vitro* sobre el crecimiento de *Plasmodium falciparum* patógeno causante de la malaria, a una concentración media inhibitoria (CI<sub>50</sub>) de 115,0 µg/mL y 5,0 µg/mL, respectivamente. Nimbolide, un compuesto aislado del extracto, mostró actividad *in vitro* antiplasmodial a una concentración media efectiva de 2,0 µg/mL. En contraste, tanto los extractos como el compuesto activo, no mostraron actividad en ratones infectados con *P. falciparum*.<sup>41</sup> En otro estudio *in vivo*, extractos de hojas y corteza provocaron disminución de la carga parasitaria en ratones albinos infectados con *Plasmodium berghei* en un rango de 51-80% y 56-87 % respectivamente.<sup>44</sup>

En el 2002 Parida M.M y colaboradores informan el potencial inhibitorio de las hojas del nim sobre la replicación del virus del Dengue tipo-2. En otro informe del mismo año estos evidencian que el extracto acuoso de las hojas muestra una inhibición de leve a moderada sobre la ADN polimerasa viral del virus de la hepatitis B.<sup>12,16</sup> Un extracto de hojas también ha mostrado actividad antiviral contra el coxsackievirus virus B-4 a través de su inactivación e interfiriendo en la replicación.<sup>16</sup>

### Actividad antioxidante

El papel de los radicales libres o especies reactivas de oxígeno en la génesis de varias enfermedades ha sido bien documentado. Es por ello que la búsqueda de plantas con propiedades antioxidantes resulta muy común en la comunidad científica. Numerosos extractos de partes del árbol de nim ha mostrado propiedades antioxidantes de interés, lo que pudiera ser usado como un producto natural para tales fines.<sup>16</sup> En un estudio de Alzohairy MA en 2016 se informa que el extracto de etanol de las flores y el aceite de semillas a 200 µg/mL mostraron una elevada actividad secuestradora con  $64,17 \pm 0,02 \%$  y  $66,34 \pm 0,06\%$ , respectivamente.<sup>16</sup> En otro informe, un 50 % de secuestro de radicales libres fue observado para los extractos acuoso de hojas, de etanol de flores y corteza a concentraciones de 26,5, 27,9 y 30.6 µg/mL, respectivamente.<sup>45,46</sup> A nivel *in vivo* un extracto acuoso de las hojas disminuyó la peroxidación lipídica a nivel de hígado en ratas, observándose además disminución de las enzimas glutatión peroxidasa, glutatión-S-transferasa y  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa, y una reducción de los niveles de glutatión.<sup>40</sup> Dentro de los metabolitos aislados de la especie que se le informan actividad concentración-dependiente sobre el secuestro de radicales, y potencial reductor están la azadiractina y el nimbolide.<sup>47,48</sup>

### Actividad anticancerígena

Durante las últimas décadas las propiedades anticáncer de *A. indica* han sido investigada en detalle demostrando resultados promisorios. Los compuestos activos obtenidos de esta especie han mostrado inducción de la apoptosis celular en diversos tipos de líneas tumorales. Los resultados revelan que extractos del nim han resultado efectivos contra diferentes líneas de cáncer de humano tales como: colon, estómago, carcinoma de Ehrlichs, pulmón, hígado, piel, boca, próstata y mamas. Son numerosos mecanismos por los cuales se ha demostrado esta potente actividad entre los que se pueden citar: inducción de apoptosis celular, inmunoestimulación e inmunomodulación, inhibición de la angiogénesis y de la proliferación tumoral, y producción de antioxidantes.<sup>49</sup>



Priyadarsini RV en 2009 se evaluó el potencial quimiopreventivo de los limonoides, azadiractina y nimbolida. Ambos compuestos inhibieron el desarrollo de carcinomas HBP inducidos por DMBA al influir en múltiples mecanismos como la prevención de la activación de procarcinógeno y el daño oxidativo del ADN, e inhibición de la invasión tumoral y la angiogénesis. En otro estudio Kumar S. en 2012 investigó los efectos citotóxicos del nimbolide (compuesto aislado de las hojas y flores) sobre las células de coriocarcinoma humano (BeWo). Los resultados mostraron que el tratamiento con nimbolide resultó en una inhibición del crecimiento de las células BeWo dosis dependiente y el tiempo con valores de  $CI_{50}$  de 2,01 y 1,19  $\mu M$  para 7 y 24h, respectivamente.<sup>48</sup>

#### Actividad antiinflamatoria

Numerosos estudios revelan la actividad antiinflamatoria de esta especie medicinal. Un extracto hidroalcohólico de las hojas a dosis de 400 a 800 mg/kg mostró un significativo efecto antiinflamatorio en un estudio del edema inducido por carragenina en ratas.<sup>13</sup> En un ensayo *in vivo* de granulomas inducidos por discos de algodón en ratas se apreció un buen efecto al administrarse un extracto de hojas a dosis de 200 mg/Kg. Dentro de los compuesto que destacan por esta actividad está la nimbidina la cual suprime las funciones de la macrófagos y los neutrófilo durante el proceso inflamatorio.<sup>16</sup>

#### Otras actividades farmacológicas

Kumar S. en 2012 en un estudio *in vivo* el aceite de las semillas produjo un efecto analgésico dosis dependiente en ratones albinos a las dosis de 1 y 2 mL/kg.<sup>48</sup> Por otra parte el efecto antipirético fue demostrado en un ensayo en conejos masculinos a los que se les administró un extracto de metanol obtenido de las hojas.<sup>13</sup> La acción hipoglicemiante se observó en un ensayo *in vivo*, donde un extracto del nim provocó una reducción de los niveles de glucosa a las 15 días en comparación al grupo control en ratas diabéticas.<sup>50,52</sup>

Por otro lado, el extracto acuoso de hojas administrado oralmente en ratas a dosis de 10,0 mg/kg, 40,0 mg/kg y 160,0 mg/kg, redujo la severidad de la úlcera gástrica inducida por estrés y disminuyó el daño de la mucosa gástrica provocado por etanol.<sup>40</sup>

Chattopadhyay y colaboradores reportaron que el efecto antiúlceras de las hojas es a través de un bloqueo de la secreción de ácido por inhibición de la enzima  $H^+-K^+-ATPasa$  y por prevención del daño oxidativo y apoptosis. El potente efecto antiulceroso de la nimbidina fue correlacionada en un estudio con los fármacos bloqueadores de los receptores histaminérgicos  $H_2$ .<sup>13</sup>

Un extracto acuoso de las hojas del nim ejerció su actividad inmunoestimulante al mejorar las respuestas humorales y mediadas por células. La administración oral de extracto de hoja (100 mg/kg) indujo niveles más altos de IgM e IgG junto con un mayor título de anticuerpo antiovalbúmina.<sup>13</sup>

### Actividad biológica

Otros efectos biológicos han sido estudiados para esta especie destacando los efectos insecticida, plaguicida y pediculicida lo que han posibilitado la aplicación de esta especie como control biológico y en la industria cosmecéutica.

En 2019, Prasad Giri R. y colaboradores demostraron que un concentrado de la raíz y hojas de la planta del nim aplicado en la piel repele las moscas blancas. Del mismo modo, la aplicación de crema de aceite de nim en la piel es seguro contra ciertos tipos de mosquitos.<sup>41</sup>

Romero R. y colaboradores investigaron la actividad insecticida de seis extractos etanólicos de plantas sobre moscas blancas. El objetivo del trabajo fue determinar la actividad insecticida de los extractos etanólicos de nim (*A. indica*), vinca rosea (*Catharanthus roseus* L.), ruda (*Ruta graveolens* L.), trinitaria (*Bougainvillea glabra choisy*), cariaquito (*Lantana cámara* L.) y yuquilla (*Ruellia tuberosa* L.) sobre los adultos de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Geen.) en condiciones de laboratorio. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con 7 tratamientos (seis extractos y un testigo) a concentraciones de 250; 500; 750 y 1000  $\mu g/mL$  para cada extracto. Los extractos de ruda

y nim causaron una mortalidad de 99,1 y 95,6 % a las 72h, respectivamente. Estos resultados sugieren las potencialidades del nim para el manejo integrado de mosca blanca.<sup>51</sup>

En el 2009, Martínez y colaboradores, llevaron a cabo un estudio sobre la actividad bioplaguicida de la *A. indica*, como una alternativa para el control de *Hypsipyla grandella* Zeller que afecta las plantaciones de *Cedrela odorata* L. (cedro rojo). Este trabajo fue realizado en un área de estudio de la Estación Experimental Forestal Viñales, ubicada en el municipio de Pinar del Río, Cuba. Se demostró el efecto bioplaguicida del extracto obtenido de la semilla del nim existiendo diferencias significativas respecto al producto químico. Esto demuestra las ventajas ecológicas derivadas del empleo del bioplaguicida de nim en comparación con insecticidas convencionales.<sup>53</sup>

Heukelbach J. y colaboradores en el 2006 realizaron una investigación acerca de un champú a base de nim con marca comercial Wash-Away Louse™ y evaluaron su actividad *in vitro* contra los piojos. En este estudio, se tomó los piojos (n = 17) recogido de escolares en Australia y sumergido en el champú. Los datos muestran que el champú fue más efectivo que la permetrina producto base, demostrándose que este puede remplazar el champú químico con acción pediculicida.<sup>7</sup> En una investigación adicional con el mismo champú llevada a cabo en el 2011 se encontró que este es efectivo también para matar a las liendres. Más reciente, Warra y colaboradores en 2016 llevó a cabo un estudio acerca del potencial medicinal y cosmético del aceite de semilla de *A. indica* donde hace referencia de un champú altamente efectivo contra los piojos en un ensayo *in vitro*.<sup>17</sup>

Los estudios llevados a cabo por Carreón C. en 2018 se informa que en Egipto un champú comercial mezclado con un extracto de las semillas fue efectivo para matar a los piojos al ser aplicado en 60 niñas y niños de 4 a 15 años durante varios periodos entre cinco y 60 minutos. En otro estudio realizado en el 2011, para evaluar el champú anti-piojos bajo marca comercial *Licener*® elaborado con extractos de nim se encontró que después de un tratamiento de 10 a 20 minutos con el champú en niños intensamente infectados no solamente las especies móviles de los piojos (adultos y ninfas) morían sino también las liendres.<sup>17</sup>

Estudios reportados en la literatura indican que los compuestos azadiractina, melianrol y la salanina tienen la propiedad de contrarrestar los ataques de los insectos y plagas, incluyendo los piojos, de ahí la importancia que tienen los estudios de actividad biológica de estas moléculas para ser utilizadas como insecticida, plaguicida y pediculicida.

### **I.5 Antecedentes toxicológicos de la especie**

En la literatura existen numerosos estudios *in vitro* e *in vivo* donde se evalúa la seguridad del árbol del nim. En 2010 Berenguer C.A y colaboradores, realizaron un estudio de Toxicidad a dosis repetidas de *A. indica*. Esta investigación tuvo como objetivo principal detectar signos de toxicidad tras la administración diaria durante 28 días de la decocción de nim. Para ello se realizó un ensayo de toxicidad a dosis repetidas administrando una dosis de 1 000 mg/kg por vía oral a ratas Sprague Dawley. Los resultados mostraron que la decocción de la planta no produjo alteraciones significativas en el peso corporal, ni hubo signos clínicos indicadores de toxicidad. Además, no se observaron alteraciones en los indicadores hematológicos y bioquímicos atribuibles a la sustancia de ensayo. Los resultados anatomopatológicos no mostraron alteraciones sobre sistemas, órganos y tejidos. En otro estudio conducido por la misma autora, se evaluó la toxicidad aguda de la decocción de hojas y tallos del nim en el mismo modelo experimental mediante un ensayo de toxicidad aguda oral por el método de las clases. Como resultado se obtuvo que la sustancia en estudio no produjo signos clínicos que demostraran toxicidad.<sup>54</sup>

Por otro lado Alzohairy M.A y colaboradores en el 2016 demostraron que en varios estudios basados en modelos animales y ensayos clínicos el nim es seguro a ciertas dosis. En otro estudio *in vivo* en ratas la azadiractina no mostró toxicidad incluso a 5 g/kg. A su vez en un estudio en conejo el análisis toxicológico mostraron que hubo un aumento progresivo del peso de los animales de prueba y control, y durante la duración total de la administración del extracto de nim, no se observaron signos de toxicidad en ambos grupos.<sup>16</sup>

## **I.6 Estudios clínicos de la especie**

En la literatura se reporta algunos estudios realizados en humanos, por ejemplo un extracto hidroalcohólico (70%) obtenido de las hojas fue usado para el tratamiento de *ringworm* (infección fúngica de la piel o el cuero cabelludo) en 7 pacientes. La aplicación externa de una solución al 40 % del extracto dos veces por día en el área afectada de los pacientes durante 5-10 días mostró resultados favorables, clasificando el producto como efectivo.<sup>42</sup>

EN 2004, Bandyopadhyay U. investigó acerca de un estudio en humanos para evaluar los efectos antiseoretos y antiulceroso del extracto de corteza de nim. La administración de polvo liofilizado del extracto durante 10 días a la dosis de 30 mg dos veces al día mostró una disminución significativa (77 %) de la secreción de ácido gástrico.<sup>55</sup> Alzohairy M.A, en otro estudio clínico doble ciego el extracto acuoso de hojas de nim en 50 casos de psoriasis no complicada que tomaban el régimen convencional de alquitrán de hulla. Los resultados revelaron que los pacientes que tomaban el extracto además de alquitrán de hulla habían mostrado un efecto más rápido y una mejor respuesta en comparación con el grupo placebo.<sup>16</sup>

Pai MR en 2004 en un estudio clínico de seis semanas se verificó la eficacia del gel dental de extracto de nim con enjuague bucal con gluconato de clorhexidina (0.2% p/v) como control positivo. El ensayo clínico mostró que el gel dental que contiene extracto de nim redujo significativamente el índice de placa y recuento bacteriano en comparación con el grupo control.<sup>56</sup>

## **I.7 Enfermedades del cuero cabelludo**

El cuero cabelludo es la piel que recubre el cráneo, en la cual crece el cabello. Este se ha asociado históricamente con la belleza y distinción social, el cabello ha sido recortado, moldeado e incluso coloreado desde los tiempos más antiguos. Los pelos son la parte integral de la belleza humana, se considera uno de los anexos más importantes de la piel ya que la cubre casi en su totalidad. Además, el cuero cabelludo cumple varias funciones: de barrera física, protección inmunológica y aislante térmico.<sup>1</sup> Es una parte importante del atractivo corporal y su aspecto es un indicador de salud ya que tiene relevancia

diagnóstica por la frecuencia de las patologías que lo afectan, siendo la dermatitis seborreica, la pediculosis, la tiña y la alopecia las más comunes.<sup>1,2</sup>

Las enfermedades del cuero cabelludo son aquellas que se adquieren a causa de gérmenes y otros microorganismos que afectan la corteza donde nace el cabello y pueden provocar además otros trastornos, ya sean emocionales o físicos. Este, como cualquier parte del cuerpo humano, es propenso a padecer algunas enfermedades, que si no se atienden a tiempo y de la forma adecuada pueden complicarse mucho. Entre las más frecuentes y contagiosa está la pediculosis.<sup>2</sup>

Los agentes responsables de dicha afección se encuentran en dos formas: la liendre y el piojo. **Los piojos** (*Pediculus humanus capitis*) son unos insectos que miden entre dos y tres milímetros que pueden aparecer en el pelo de la cabeza, las cejas o las pestañas. Los piojos depositan sus huevos, conocidos como liendres, que se adhieren al cabello mostrando una forma parecida a la de la caspa y son difíciles de eliminar. Una vez asentados, sobreviven alimentándose de sangre que extraen del cuero cabelludo. Pueden causar picores en la cabeza o la aparición de pequeñas protuberancias rojas en el cuero cabelludo.<sup>1,6</sup>

Los piojos se producen por el contagio a través de otra persona que los porta, ya sea por contacto directo o por compartir objetos de aseo personal como cepillos, peines o toallas. Estos se arrastran a la hora de moverse, ya que son incapaces de saltar o volar. Se diseminan con facilidad, en especial en niños en edad escolar, al tener contacto personal cercano y compartir pertenencias, su aparición no significa que se tengan malos hábitos higiénicos.<sup>6</sup>

La hembra adulta deposita los huevos (liendres) en el cuero cabelludo, fijándolos fuertemente a la raíz del pelo con una sustancia viscosa que actúa como pegamento y hace que estos huevos solamente se despeguen manualmente o utilizando un peine de púas muy finas (lendrera). Las liendres se abren a los 5/10 días, dando lugar a las larvas que en aproximadamente dos semanas llegan al estado adulto, presentándose así la posibilidad de la aparición de nuevos huevos.<sup>6</sup>

La pediculosis supone en la actualidad un problema en nuestros días, pues está presente en cualquier región del mundo, sin embargo, se constata en la literatura científica que hay tratamientos eficaces que se pueden aplicar con efectividad, por lo que no entraña riesgos para la salud.<sup>6</sup>

Dentro de los medicamentos existentes en el Cuadro Básico de Medicamentos (CBM) en Cuba para tratar la pediculosis están el benzoato de bencilo (loción) y la permetrina (loción 1 %, crema 5 %).<sup>57</sup> Ambos son productos químicos de fácil adquisición, pero al ser de naturaleza química implica riesgos a la salud humana. El benzoato de bencilo puede provocar irritación y dermatitis por contacto por exposición prolongada. En el caso de la permetrina puede causar posibles reacciones adversas como enrojecimiento del cuero cabelludo y prurito. Es por ello que resulta un reto para la industria cosmética y farmacéutica la búsqueda de nuevas soluciones ante este padecimiento, de ahí que aparecen en el mercado nuevos productos cosmeceúticos creados de tal forma que ayuden a combatir esta afección con el uso de nuevos ingredientes naturales.

Entre los cosmeceúticos capilares se encuentra el champú herbal a base de extractos y aceites esenciales de plantas medicinales, como es el caso del champú de nim que ha mostrado resultados positivos en cuanto su acción como pediculicida. Aunque se utilizan otros ingredientes de origen natural que son muy comunes para la formulación del champú herbal como es el *Ocimum sanctum* que contiene vitaminas, antioxidantes, oligoelementos, unido a sus propiedades antibacterianas, *Aloe vera* (aloe) como agentes acondicionadores, y las especies *Terminalia chebula* y *Terminalia bellirica*, con eficacia comprobada para el cuidado del cabello.<sup>3</sup>

### **I.8 Champú: Generalidades**

El champú puede describirse como una preparación cosmética destinada al lavado de cabello y cuero cabelludo, empaquetado en una forma conveniente para su uso. Su función principal es limpiar el cabello del sebo acumulado, restos de cuero cabelludo y residuos de preparaciones para el cuidado del cabello.<sup>1</sup>

Un champú también debe ser fácil de quitar enjuagando con agua, debe producir una buena cantidad de espuma para satisfacer las expectativas de los usuarios (aunque la espuma no es garantía de limpieza), y no debe ser tóxica, ni irritante para cabello y cuero cabelludo, evitando cualquier efecto secundario o irritación de la piel y los ojos.<sup>1</sup>

Pueden ser de diversos tipos dependiendo de su naturaleza (natural y sintético) y su uso, entre los más comunes se encuentran: champú líquido, champú en polvo, champú loción y champú especializado (acondicionador, anticaspa, para bebé y otros usos específicos).

Los sintéticos dentro de su formulación poseen varios productos químicos, colorantes y sus derivados han demostrado causar diversas enfermedades de la piel que tienen numerosos efectos secundarios como toxicidad para los ojos, sobre secado de cabello y deposición de sal en el tallo del cabello.<sup>4,10</sup>

La palabra herbal es un símbolo de seguridad en contraste con lo sintético, que tiene efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente. Hoy en día la utilidad de las plantas medicinales en la producción cosmeceútica ha aumentado considerablemente en el sistema de cuidado personal y hay una gran demanda de la cosmética a base de productos naturales.<sup>10</sup>

Con el objetivo de satisfacer estas necesidades existe actualmente una tendencia hacia el desarrollo de cosméticos basado en ingredientes naturales, generalmente asociado con un estilo de vida saludable. Con este fin la industria cosmeceútica se centran en el cuidado del cabello, con la producción de productos seguros y ecológicos como son los champús naturales o a bases de plantas medicinales.

Estos productos son formulados con el uso de extractos de plantas medicinales y están destinados a limpiar el cabello y el cuero cabelludo como el champú normal. Se utilizan para la eliminación de aceites, caspa, contaminación ambiental y tratar afecciones como la pediculosis.<sup>10</sup>

Hoy en día es una alternativa al champú sintético, que van en ascenso en el mercado ya que la gente prefiere productos naturales a químicos, debido a que han demostrado mejorar la salud y brindan una serie de resultados positivos para el cabello y el cuero



cabelludo además se cree que estos productos son más seguros y libres de efectos secundarios. A su vez estos productos buscan reducir el uso de microplásticos e ingredientes sintéticos que son nocivo para la piel y la salud en su formulación.<sup>10</sup>

### I.8.1 Componentes del champú

Las formulaciones de champús están formadas en general por un 80% de agua, 10% de surfactantes, 5% de modificadores de la viscosidad, 2% de preservantes, fragancias y colorantes y 3% de aditivos de rendimiento.<sup>2</sup>

- Los tensoactivos son los componentes principales del champú, principalmente se utilizan tensoactivos aniónicos aunque existen otros como son catiónicos, anfóteros y no iónicos. Su función es la de proporcionar detergencia y espuma.

Los **tensoactivos aniónicos** se caracterizan por un grupo polar hidrófilo cargado negativamente. Entre ellos están el lauril sulfato de amonio, lauril sulfato de sodio, lauril sarcosinato de sodio y el alfa-olefina sulfonato. Son muy buenos para eliminar el sebo y la suciedad; sin embargo, son limpiadores fuertes y pueden inducir un aumento de las cargas negativas eléctricas en la superficie del cabello, creando rizado y fricción. Por lo tanto, para reducir daños y tener una detergencia suave, los tensoactivos secundarios como los no iónicos y los tensoactivos anfóteros se suelen añadir a la formulación.<sup>2</sup>

Los **tensoactivos catiónicos** se usan principalmente como acondicionadores, para equilibrar las cargas negativas del cabello después del lavado, reduciendo el encrespamiento. Son eficientes suavizantes y sustantivos para el cabello debido al bajo punto isoeléctrico del cabello (pH 2,15 – 3,17). Ejemplos típicos son: los cloruros de trimetilalquilamonio y cloruro o bromuro de benzalconio. Debido a su naturaleza química, también tienen propiedades bacteriostáticas.<sup>2,7</sup>

Los **tensoactivos anfóteros** se caracterizan por el control de la carga a través de los valores de pH de la solución, son tensoactivos aniónicos o catiónicos en soluciones alcalinas o ácidas, respectivamente. Se consideran muy leves y, por lo tanto, dermatológicamente compatibles. Tienen buenas propiedades espumantes, detergentes y humectantes. Por estas razones, se utilizan para reducir la agresividad de los tensoactivos

aniónicos. Se pueden mencionar dos tipos de compuestos anfóteros: iminodipropionato de alquilo y (amido) betaínas.<sup>2</sup>

Los **tensoactivos no iónicos** no exhiben carga eléctrica en soluciones acuosas debido a la ausencia de grupos disociables hidrofílicos. Son menos agresivos que otros tensoactivos y, gracias a sus propiedades eudérmicas, se usan ampliamente como emulsionantes y solubilizantes en formulaciones cosméticas.<sup>58</sup>

Otros de los ingredientes muy empleados en la formulación de champú están:

- **Modificadores de viscosidad:** permiten lograr la consistencia adecuada del producto, entre los más utilizados están los electrolitos:  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y  $\text{NaCl}$ .
- **Conservantes:** Se utilizan para prevenir el crecimiento de bacterias u hongos, ejemplo: metil y propil parabeno y formaldehído.
- **Solubilizantes:** permiten incorporar el perfume y otros ingredientes liposolubles al champú. Ejemplo: alcoholes polietoxilados, ésteres y PEG-40.
- **Perfumes:** Permiten enmascarar los olores propios de la materia prima, así como de otros ingredientes como extractos de plantas que no cuenta con un olor agradable. Ejemplo: fragancias, frutales o florales.
- **Agentes acondicionadores:** proporcionan suavidad, evitan la estática del cabello y facilitan el peinado. Ejemplo: hidrolizados de proteínas y siliconas (dimeticona).
- **Agentes modificadores de pH:** debe ser cercano a la neutralidad para adaptarlo al pH natural del cabello y cuero cabelludo (5,5 – 6,0) manteniendo el equilibrio ecológico de este, evitando posibles daños al pelo y el cuero cabelludo. Ejemplo: citrato de sodio y ácido cítrico.
- **Colorantes:** Tienen como finalidad mejorar la presentación del champú. Ejemplo: rojo (CI 17200/rojo 33), amarillo (CI 19140/amarillo 5) y azul (CI 42090/azul 1).<sup>7,58,59</sup>

### **I.8.2 Parámetros de calidad del champú medicinal**

Los champús se evalúan según sus características físicas y propiedades químicas, incluida la caracterización organoléptica (color, olor, transparencia y apariencia), propiedades físico-química (medición de pH, porcentaje de contenido de sólidos, sólidos totales,

viscosidad, mediciones reológicas, nivel de dispersión de suciedad, capacidad de espuma y estabilidad y altura de la espuma, y tensión superficial); así como pruebas microbiológicas. Estos parámetros permiten evaluar la calidad del champú a partir de pruebas de estabilidad.<sup>53</sup>

### **I.9 Estudio de estabilidad: generalidades**

**Estabilidad:** Propiedad de cualquier forma farmacéutica para mantener las especificaciones señaladas y aceptadas en la monografía que aseguren sus características físicas, químicas, microbiológicas y biofarmacéuticas desde su preparación y durante todo el tiempo de vida útil.<sup>60</sup>

**Estudio de estabilidad:** Serie de ensayos que permiten obtener información para establecer el periodo de validez de un medicamento en su envase original y en las condiciones de almacenamiento especificadas que sus características físicas, químicas, microbiológicas y biológicas permanecen dentro de límites especificados, bajo la influencia de diversos factores ambientales como temperatura, humedad y luz. Un estudio de estabilidad puede ser:

Estudio de estabilidad a tiempo real o de vida de estante: Estudios de las características físicas, químicas, microbiológicas y biofarmacéuticas de un medicamento durante el periodo de validez propuesto y en las condiciones de almacenamiento y en el sistema envase/cierre en que se propone circular, o con el que circula en el mercado. Sus resultados permiten confirmar o establecer el periodo de validez y las condiciones de almacenamiento.<sup>61-63</sup>

Estudio de estabilidad acelerada: Estudio diseñado para lograr el incremento de la velocidad de degradación química y los cambios físicos de la sustancia mediante condiciones de almacenamiento extremas o exageradas con el propósito de monitorear las reacciones de degradación y predecir el periodo de validez bajo condiciones normales de almacenamiento.<sup>62,63</sup>

Un preparado farmacéutico se considera estable siempre que sus parámetros físicos, químicos, microbiológicos y toxicológicos no presenten desviación dentro de un límite

establecido de acuerdo a las consideraciones propias de su elaboración, y la valoración química que no disminuya en más de un 10% de la concentración inicial con relación al total de la dosis establecida en la formulación del medicamento en cuestión.

Los parámetros a evaluar son determinados por el formulador y dependerán de las características de la formulación y de los componentes utilizados en ella. Generalmente se evalúan aspectos como: organolépticos (color, olor, sabor, aspecto y textura), físico-químicas (valor de pH, viscosidad, tensión superficial, densidad relativa, índice de refracción y otras) y microbiológicas.<sup>63</sup>

**Las características organolépticas** determinan los parámetros de aceptación del producto por el consumidor.<sup>62</sup>

**La prueba físico-química** es importante para estudiar alteraciones en la estructura de la formulación que no son comúnmente perceptibles a simple vista. Estos análisis pueden indicar problemas de estabilidad entre los ingredientes o resultado del proceso de fabricación.<sup>61</sup>

**Pruebas microbiológicas:** los medicamentos se pueden contaminar por la presencia constante de microorganismos en el medio ambiente, en las propias sustancias medicamentosas y aparatos de trabajo utilizados. En todos ellos puede aparecer mohos, turbidez, malos olores, fermentaciones y aparición de pirógenos y microorganismos que produzcan alteraciones químicas.<sup>60,63</sup>

### **I.9.1 Factores que pueden influir en un estudio de estabilidad**

Los estudios de estabilidad pueden verse afectados por varios factores principalmente externos (temperatura, luz, humedad y otros) e internos (incompatibilidades y envase).<sup>62,64</sup>

**Temperatura:** Las altas temperaturas pueden favorecer determinadas reacciones químicas o afectar los constituyentes de los fármacos. Esto provocaría el deterioro de las mismas.<sup>61,62</sup>

**Luz:** Este factor afecta a los fármacos deteriorando su aspecto y a veces ocasionando cambios indeseables, sobre todo en aquellos constituyentes que sean fotosensibles. En estos casos debe utilizarse para el almacenamiento del producto un envase que proteja la droga y sus extractos de la luz, como son frascos cerrados de color ámbar.<sup>61,62</sup>

**Humedad:** Puede favorecer reacciones degradativas. Un exceso de humedad puede aumentar el peso de la droga, reduciendo así el porcentaje de constituyentes. Favorece la actividad enzimática y el desarrollo de hongos, produciendo el deterioro de la droga.<sup>61</sup>

**Envases:** pueden aportar elementos que reaccionan con los constituyentes de las drogas o sus extractos, provocando alteraciones en la composición química de la formulación.<sup>61</sup>

**Incompatibilidades:** las principales son entre principio activo y excipiente, aunque se pueden producir entre principio activo, excipientes y el material del envase, la consecuencia de estas incompatibilidades son: la degradación del principio activo o el cambio en el aspecto de un producto.<sup>64</sup>

# Capítulo II



## MATERIALES Y MÉTODOS

### I. Características generales de la investigación

Se realizó un estudio de estabilidad físico-química y microbiológica de vida de estante a temperatura ambiente, en envase de cristal ámbar, de un champú a partir de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss., a tiempo 0, 7 y 15 días. La investigación se llevó a cabo en la UEB "Los amigos" perteneciente a la empresa LABIOFAM, Holguín, en los laboratorios experimentales de la carrera de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Oriente y en colaboración con el Laboratorio Farmacéutico Oriente de Santiago de Cuba, durante el periodo comprendido de Enero a Junio del 2020.

### II. Recolección y procesamiento del material vegetal

La recolección del material vegetal (hojas) se realizó en el municipio Mayarí perteneciente a la provincia de Holguín en las áreas de la Empresa Agropecuaria Guatemala teniendo en cuenta los requisitos de recolección. Una muestra de la planta se identificó taxonómicamente en el Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO) y fue depositada en el herbario de dicha institución (Anexo I). El resto del material recolectado fue sometido a un proceso de secado al aire variante sol durante siete días hasta llegar a peso constante. Una vez seca la droga fue molinada en un molino de martillo (BRACO SRL/Italia) hasta un tamaño de partícula de 3 mm.

### III. Obtención del extracto de hidroalcohólico de las hojas de *A. indica*

El extracto hidroalcohólico se obtuvo de acuerdo a la metodología establecida según proceso tecnológico P 15-2-02-005 de la empresa LABIOFAM Mayarí-Holguín. Primeramente, se pesaron tres kg de la droga seca en una balanza digital (GOSMET BL-210/Rusia). Posteriormente se utilizó tres L de alcohol por kg de droga, se mezcló y agitó en una máquina mezcladora con capacidad para 10 L. La solución obtenida se filtró al vacío empleando un embudo Bushner y se envasó en un recipiente para ser utilizado en la obtención del champú.

#### IV. Formulación y obtención del champú a partir del extracto de hojas de *A indica*

Para la obtención de la formulación del champú se empleó la metodología establecida en la empresa LABIOFAM Mayarí-Holguín. Inicialmente se pesaron cada uno de los componentes en una balanza digital (GOSMET BL-210/Rusia). Se disolvió 98 g de lauril sulfato de sodio y 20 g de cocamida, en 500 mL de agua desionizada con ayuda de una máquina mezcladora con agitación constante durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego se adicionaron 0,3359 g de formol, 30 mL del extracto etanólico de hojas Nim, 3 mL de aromatizante y se enrasó con agua desionizada hasta completar volumen (1 L) y se continuó mezclando. Por último, se añadió 0,5057 g de ácido cítrico y se siguió mezclando hasta lograr una completa homogenización del producto. El producto obtenido se envasó en recipiente de vidrio de color ámbar de 1 L. Bajo esta misma metodología se obtuvieron un total de cuatro lotes de la producción y fueron utilizados para el estudio de estabilidad de vida de estante a temperatura ambiente.

##### Formulación del champú para 1L.

Lauril sulfato de sodio.....	98 g (tensoactivo)
Cocamida.....	20 g (agente espesante)
Extracto hidroalcohólico de hojas de nim.....	30 mL (principio activo)
Ácido cítrico.....	0,5057 g (regulador de pH)
Aromatizante.....	3 mL (fragancia)
Formol.....	0,3359 g (preservo)
Agua desionizada.....	csp. 1L (vehículo)

#### V. Estabilidad físico-química del champú

Se realizó un estudio de estabilidad físico-química para cuatro lotes del champú a partir del extracto de las hojas de *A indica* a tiempo 0, 7, y 15 días. Los ensayos realizados fueron: determinación de características organolépticas, determinación de sólidos totales, determinación de la densidad relativa, determinación de pH, determinación de la



viscosidad, y estabilidad y altura de la espuma. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado y los resultados se expresaron en la media  $\pm$  desviación estándar.

### **V.1 Determinación de características organolépticas**

Se determinó las características organolépticas color, apariencia, olor y transparencia para cuatro lotes del champú.

Color y transparencia: se tomó un tubo para ensayos bien limpio y seco, se llenó hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observó el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.

Olor: se tomó una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de anchura por 10 cm de longitud y se introdujo un extremo en la muestra de ensayo. Se olió y se determinó si correspondía con la característica del producto.<sup>65</sup>

### **V.2 Determinación de pH**

El pH de la solución se determinó directamente a la muestra de champú a temperatura ambiente mediante un pHmetro (senSION™+PH3/China) equipado con un electrodo combinado de vidrio y calomel con control de temperatura. El ensayo se realizó por triplicado para cada lote.

### **V.3 Determinación de sólidos totales**

Este parámetro se determinó siguiendo lo establecido en la Norma Ramal de Salud Pública 312/91.<sup>65</sup> Para ello se transfirió de la muestra de ensayo previamente homogenizada 5 mL a una cápsula de porcelana limpia, seca y previamente tarada. La cápsula se colocó en un baño de agua y se evaporó hasta que el residuo estuvo aparentemente seco, posteriormente se pasó a una estufa a una temperatura de  $105 \pm 2$  °C durante 3 horas. Luego se retiró la cápsula de la estufa, se colocó en una desecadora hasta que alcanzó la temperatura ambiente y se pesó. Se repitió el proceso anterior, pero empleando solo 60 minutos de secado, las veces necesarias, hasta obtener peso constante. Los sólidos totales (St) se calcularon mediante la fórmula siguiente:

$$St = \frac{(Pr - P)}{Vx} \times 100$$

Donde:

Pr: masa de cápsula más el residuo (g)

V: volumen de porción de ensayo (mL)

P: masa de la cápsula vacía (g)

100: factor matemático

El ensayo se realizó por triplicado para cada lote. Los valores de la cantidad de sólidos totales se expresaron en porciento.

#### V.4 Determinación de la densidad relativa

El ensayo de densidad relativa se determinó siguiendo lo establecido en la Norma Ramal de Salud Pública 312/91.<sup>65</sup>

De la muestra de ensayo se tomaron 25 mL en un picnómetro. Se pesó el picnómetro limpio, vacío y seco con un error máximo permisible de  $\pm 0,5$  mg y se llenó con la muestra de ensayo de modo que no quedaron burbujas de aire, de ser preciso se empleó una tira de papel de filtro para extraer el exceso de muestra. Se vació el picnómetro, se lavó con alcohol etílico y posteriormente se llenó con agua, repitiéndose el ensayo.

La densidad relativa D se calculó mediante la fórmula siguiente:

$$D = \frac{(m_1 - m)}{(m_2 - m)}$$

Donde:

m: masa del picnómetro vacío (g).

m<sub>2</sub>: masa del picnómetro con agua (g).

m<sub>1</sub>: masa del picnómetro con la muestra de ensayo (g).

La determinación se realizó a la temperatura t (30 °C) por lo que se utilizó la fórmula siguiente:

$$d_{25}^{25} = d_{25}^t + 0,00080(t - 25)$$

Donde:

d<sub>25</sub><sup>t</sup>: densidad relativa a la temperatura de medición.

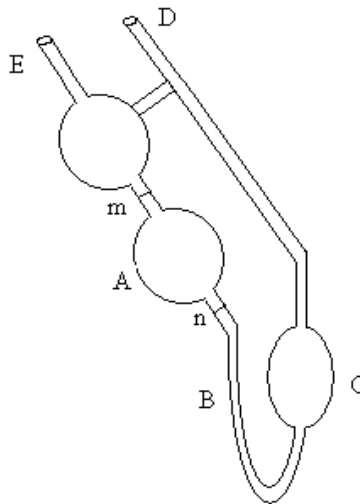
t: temperatura de la medición (°C).

0,00080: factor de corrección.

El ensayo se realizó por triplicado para cada lote. Se aceptaron una diferencia entre las determinaciones de 0,0002 como máximo.

### V.5 Determinación de la viscosidad

La viscosidad se determinó a través del viscosímetro de Ostwald (**Figura 7**).



**Figura 7.** Viscosímetro de Ostwald

Para ello primeramente se verificó que el viscosímetro estuviera perfectamente limpio. Luego se colocó verticalmente en un soporte y con ayuda de una probeta graduada se añadió 15 mL de agua desionizada por la rama D (**Figura 7**). Luego mediante una pera de goma situada en la rama E (**Figura 7**) se aspiró la solución hasta que el nivel del líquido quede por encima de la marca *m* (**Figura 7**). Posteriormente se dejó fluir el líquido y con un cronómetro se midió el tiempo que la superficie del líquido pasa de *m* hasta *n* (**Figura 7**). La medición se realizó 10 veces para determinar el tiempo medio para cada lote.

El proceso anterior se repitió pero con la muestra de ensayo (champú de nim). Para el cálculo de la viscosidad se empleó la siguiente ecuación:

$$\eta_1 = \eta \frac{p't'}{pt}$$

Donde

$\eta_1$ : viscosidad de la sustancia

$t'$ : tiempo de recorrido de la sustancia

$\eta$ : viscosidad del agua

$t$ : tiempo de recorrido del agua

$\rho'$ : densidad de la sustancia

$\rho$ : densidad del agua

### V.6 Altura y estabilidad de la espuma

Para este parámetro se empleó el método de agitación del cilindro para determinar la formación de espuma descrito por Preethi J y colaboradores.<sup>9</sup> Primeramente se preparó una solución de champú al 1% en un volumétrico con agua destilada. Luego 50 mL de la solución se adicionó en una probeta graduada de 250 mL y se cubrió con un papel de aluminio y se agitó por 10 minutos. Posterior a ese tiempo se registró el volumen total de la espuma formada después de 1 minuto concluido el ensayo. Luego de 4 minutos se volvió a registrar el volumen de la espuma. El ensayo se realizó por triplicado para cada lote.

### VI. Estabilidad microbiológica del champú:

La estabilidad microbiológica del producto se realizó mediante el ensayo de Conteo microbiano en el Laboratorio Farmacéutico Oriente de Santiago de Cuba, rigiéndose por la instructiva INS 01.148T Análisis microbiológico a materias primas y producto terminado no estéril por el método de placa vertida. El ensayo fue realizado a los cuatro lotes a tiempo 0, 7 y 15 días. Se siguieron los siguientes criterios de aceptación para la calidad microbiológica:

- Bacterias:  $10^5$  UFC x g o mL
- Hongos:  $10^4$  UFC x g o mL
- $10^4$  U.F.C. bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis x g o mL
- Ausencia de *Salmonella* (25 g o 25 mL)
- Ausencia de *Escherichia coli* (1 g o 1 mL)

## VII. Análisis y procesamiento de los resultados

Los resultados del estudio de estabilidad se graficaron y tabularon empleando el programa Microsoft Excel y Word para Windows. Para cada parámetro se realizó un análisis de varianza de clasificación simple para evaluar la influencia de los factores lote y tiempo, empleando el programa estadístico *Statgraphic Centurion XV* versión 15.2.14 para Windows. Además se realizó una comparación de medias a través de la prueba de Tukey para mínimas diferencias significativas (LSD, acrónimo en inglés). Se consideraron significativas las diferencias que excedieron un  $\alpha$  de 0,05.

# Capítulo III



---

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### III.1. Determinación de los parámetros de calidad físico-química del champú de hojas de *A. indica*

Dentro de la medicina natural y tradicional las plantas y extractos vegetales han sido usados para la limpieza, embellecimiento e higiene del cabello. Hoy en día la industria cosmecéutica ha experimentado una tendencia en el desarrollo y formulación de nuevos champús que contienen como ingredientes activos extractos de plantas.<sup>66</sup> Es por ello que numerosos estudios son realizados para lograr un producto seguro y estable en el tiempo. En tal sentido, la formulación de champús herbolarios (que contienen extractos de planta) presenta dificultades y desafíos fundamentalmente relacionado con el ingrediente activo (extracto vegetal) y las incompatibilidades que pueden presentarse con los excipientes característicos de un champú.<sup>67,68</sup>

Al igual que los medicamentos los productos cosméticos y cosmecéuticos deben ser estables, que no es más que la propiedad que tiene el producto de retener dentro de un periodo de tiempo (de comienzo a fin de su vida útil) y en un envase determinado, las mismas propiedades y características que tenía en el momento en que finalizó su elaboración, con un procedimiento estandarizado. Propiedades que no son el resultado del azar, sino del diseño y desarrollo racional del producto y que pueden ser clasificadas en cinco tipos diferentes, a saber: química, física, microbiológica, toxicológica y de funcionalidad.<sup>69,70</sup>

En la presente investigación se evaluó la estabilidad físico-química y microbiológica de un champú formulado (envasado en recipiente de cristal color ámbar) con extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. indica* a vida de estante a temperatura ambiente durante 15 días. El producto fue elaborado en la UEB "Los amigos" perteneciente a la empresa LABIOFAM, Holguín.

#### III.1.2. Parámetros físico-químicos

En las tablas 1, 2 y 3 se muestran las características organolépticas, así como los parámetros físico-químicos (pH, sólidos totales, densidad relativa, viscosidad, y estabilidad

y altura de la espuma) obtenido para cuatro lotes del champú medicinal de *A. indica* a tiempo 0, lo que constituyen el patrón de calidad para el estudio de estabilidad.

### III.1.2.1. Características organolépticas

Las características organolépticas varían según la forma farmacéutica y el modo de preparación, en este caso se trata de un producto cosmeceútico champú medicinal de hojas de nim, destinado para uso humano para el tratamiento de la pediculosis y limpieza del cabello. Por tanto, se evaluaron los parámetros color, olor, transparencia y apariencia (**Tabla 1**). Se puede observar que los cuatro lotes de champú medicinal de *A. indica* presentan características similares en correspondencia con su formulación.

El color ámbar pardo oscuro del champú está dado por el principio activo correspondiente al extracto hidroalcohólico de hojas de nim, el cual fue utilizado para su formulación y le imprime esa tonalidad. Se observa un poco más claro que el extracto debido a que el champú presenta un gran porcentaje de agua desionizada lo que clasifica como champú líquido no viscoso.

**Tabla 1.** Características organolépticas del champú medicinal de hojas de *A. indica* (tiempo 0)

Característica organoléptica	Lote 1, 2, 3 y 4
Color	Ámbar pardo oscuro
Olor	Agradable
Apariencia	Homogéneo y sin grumos
Transparencia	Claro, visible a tras luz

Uno de los atributos más importantes en la formulación de un champú es la fragancia, puesto que constituye la identidad del producto para el consumidor, además de ser uno de los principales motivadores para su selección al momento de la compra. Sin embargo, su incorporación en una formulación específica trae consigo exigencias dentro de las que se destacan una buena compatibilidad, facilidad en la incorporación, estabilidad y excelente desempeño.<sup>71,72</sup> El champú del nim presentó un olor agradable en correspondencia con el aromatizante empleado. No obstante en los últimos años se ha



originado nuevos desarrollos tecnológicos relacionados con el manejo de la concentración, la disolución y la incorporación de las fragancias, así como la búsqueda de ingredientes novedosos para lograr un desempeño de larga duración y con excelente perfil olfativo. De ahí que se recomienda la realización de estudio que permita evaluar la influencia de diferentes fragancias en el champú del nim.<sup>73</sup>

La apariencia de los cuatro lotes es homogénea y sin presencia de grumos al tacto debido a la incorporación adecuada de cada uno de los ingredientes, lo que sugiere la ausencia de alguna incompatibilidad de solubilidad en la formulación. Con respecto a la transparencia se comportó claro a tras luz lo que está en correspondencia a las características de un champú líquido no viscoso. Ambos aspectos influyen de forma positiva por su atractivo estético y atracción al cliente.

En la literatura se evidencia que para otros champús herbolarios el color está condicionado por el extractos vegetal que se utiliza como ingrediente activo. Los restantes aspectos organolépticos también coinciden tanto en el olor agradable, homogeneidad y transparencia clara.<sup>68,71</sup>

### III.1.2.2. pH

El equilibrio de pH de los productos cosméticos y cosmeceúticos es importante ya que afecta la piel y la superficie en la que se usan. El pH natural del cabello y cuero cabelludo es de 5,5 - 6,0 lo que hace necesario que los champús estén formulados como neutros o ligeramente alcalino. Esto permite mantener un equilibrio ecológico entre el cuero cabelludo y el cabello, así se logra minimizar el daño y mejorar sus cualidades, además de evitar irritación en los ojos. Por otro lado, la acidez leve previene la hinchazón y promueve ajuste de las escamas, lo que induce brillo al cabello.

En la tabla 2 se muestran los valores de pH para el champú de hojas de *A. indica* a tiempo 0, los que se comportaron en un rango de 6,0 - 6,5. Como se aprecia en la tabla 2 los lotes 1 y 2 presenta similitud estadística. En contraste, entre los lotes 3 y 4 hay diferencias estadísticamente significativas entre ellos y también con respecto a los lotes antes mencionados según la prueba estadística de Tukey empleada. Lo que puede estar

justificado a factores relacionados con la formulación propiamente dicha, al extracto vegetal y aspectos tecnológico durante la elaboración. El pH obtenido para la formulación clasifica como ligeramente ácido por lo que no está dentro del rango óptimo reportado para este tipo de productos. Este comportamiento puede estar dado al extracto vegetal en el cual pudieran estar presentes compuestos aislados de las hojas del nim, que aportan acidez como los fenoles y flavonoides. No obstante, la posible variabilidad en el pH es ajustada por la presencia en la formulación de un regulador de pH (ácido cítrico). Partiendo de este resultado se propone realizar un estudio de reformulación que permita obtener un champú con características de pH neutra o ligeramente alcalina.<sup>57</sup>

En diferentes estudios reportados en la literatura se encuentra que para otros champús los valores de pH son variables. En un estudio conducido por Al Badi y Khan, 2014, los valores de pH para un champú herbolario y dos champús comercial *Dove Shampoo*<sup>®</sup> (Unilever, Middle East) y *Herbal Essences Shampoo*<sup>®</sup> (Procter and Gamble company, US) fueron de  $7,02 \pm 0,09$ ;  $6,12 \pm 0,27$  y  $6,04 \pm 0,36$  respectivamente. Otras tres formulaciones de champú con extracto de hojas de oliva (*Olea europaea*) exhibieron un rango de pH entre 5,5 y 6,8.<sup>57</sup> Sastrawidana y colaboradores, informan para dos formulaciones de champús con extractos de seis plantas un pH ligeramente ácido (pH 5,25 y 5,50).

### III.1.2.3. Sólidos totales

Los resultados del contenido de sólidos totales de la formulación de champú de *A. indica a* tiempo 0 (**Tabla 2**) indica que los lotes 3 y 4 tiene un comportamiento similar según la prueba estadística de Tukey y al mismo tiempo presentan diferencias estadísticas con respecto al lote 1. En cambio el lote 2 no difiere del resto de los lotes ya que se comporta similar al lote 1 y al mismo tiempo a los lotes 3 y al 4. Cada lote puede variar teniendo en cuenta el diseño de la formulación y el proceso de producción que se lleva a cabo para su obtención.

Los valores de sólidos totales para este champú estuvieron entre un 6 y 7 % en función de los lotes (**Tabla 2**). En la literatura se informa que el rango de porcentaje de sólidos en un

champú se encuentra entre un 20 - 30 %. Un bajo porcentaje de sólidos implica un producto muy acuoso que es muy fácil y rápido de lavar sin haber actuado en el cabello. Por otro lado, un alto contenido implica una mayor presencia en el cabello y se dificulta su lavado.<sup>74</sup>

El champú del nim presenta valores muy bajo de sólidos, lo que puede estar condicionado en parte al ingrediente activo, el extracto de hojas de nim. Este al presentar bajos porcentajes y además al encontrarse a un 3% le proporciona poco sólidos a la formulación, no obstante, otros excipientes aportan al valor total. Este resultado no coincide con lo reportado en la literatura para otras formulaciones de champús con extractos de plantas donde los porcentajes de sólidos totales se comportan en un rango entre 20–30 %.<sup>68</sup>

Este resultado no es ideal para lograr una mayor permanencia en el cabello del champú del nim durante el lavado, por lo que no se lograría una acción pediculicida tan efectiva. De ahí que se recomienda la realización de estudios de reformulación que permiten lograr un producto con los valores ideales de sólidos.<sup>68,74</sup>

**Tabla 2.** Parámetros físico-químicos del champú de hojas de *A. indica* (tiempo 0)

Parámetro	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
pH	6,49 ± 0,03 <sup>a</sup>	6,47 ± 0,01 <sup>a</sup>	6,24 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,03 ± 0,02 <sup>c</sup>
Sólidos totales (%)	6,06 ± 0,17 <sup>a</sup>	6,87 ± 0,42 <sup>ab</sup>	7,06 ± 0,42 <sup>b</sup>	7,12 ± 0,23 <sup>b</sup>
Densidad relativa	1,0174 ± 0,0012 <sup>a</sup>	1,0141 ± 0,0024 <sup>a</sup>	1,0151 ± 0,0004 <sup>a</sup>	1,0156 ± 0,0005 <sup>a</sup>
Viscosidad (cSt)	2,30 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,29 ± 0,01 <sup>ab</sup>	2,20 ± 0,07 <sup>b</sup>	2,28 ± 0,01 <sup>ab</sup>

**Leyenda:** Letras distintas indican diferencias significativas (prueba de LSD Tukey,  $\alpha = 0,05$ )

#### III.1.2.4. Densidad relativa

La densidad relativa fue determinada por picnometría según la NRSP 312/91. Los valores oscilaron entre 1,0141 – 1,0174 para los 4 lotes elaborados de champú medicinal (**Tabla 2**). El análisis estadístico muestra que para el tiempo 0, los 4 lotes son similares. Este parámetro es poco estudiado para los champús, no obstante, fue incluido en el estudio ya que es un parámetro de calidad para las soluciones líquidas no viscosa como es el caso de

este champú medicinal de nim. La densidad es una medida que resulta útil para detectar algún tipo de inestabilidad en formulaciones líquidas. En los estudios encontrados en la literatura para otros champús herbolarios este parámetro no es determinado, de ahí que no se pudieran establecer comparaciones. Sin embargo, en el Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos de Cuba, se encuentran reportadas varias formulaciones de champú medicinales a partir de extractos vegetales, para los cuales se establecen valores de densidad relativa muy similares para a los del champú de *A. indica*: aloe champú  $1,0386 \pm 0,01$ , majagua champú  $1,0088 \pm 0,0043$  y manzanilla champú  $1,0129 \pm 0,104$ .

### III.1.2.5. Viscosidad

En los champús la viscosidad juega un papel importante en la definición y control de muchos atributos del producto, como la vida útil, estabilidad, estética, facilidad de flujo, consistencia y grado de propagación tras la aplicación sobre el cabello. La viscosidad de un champú está relacionado en parte con el agente espesante que se utilice así como de la adición o no de un electrolito como el cloruro de sodio, para dar la consistencia cremosa que siempre se desea.

En la presente investigación fue determinada la viscosidad del champú medicinal de nim a través de un viscosímetro de Ostwald. Los valores de viscosidad obtenidos se recogen en la tabla 2 para tiempo 0. Entre los lotes 1 y 3 existen diferencias significativas, mientras que los lotes 2 y 4 se comportan similares a estos dos según la prueba estadística aplicada (Prueba Tukey). Los resultados confirman que el champú medicinal de nim clasifica como un líquido no viscoso al presentar valores por debajo de 2,5 cSt. En contraste, en la literatura se informan valores muy elevados de viscosidad para champús a base de extractos de plantas lo que se corresponde a sus homólogos comerciales. Por tanto, se recomienda llevar a cabo un estudio de reformulación para mejorar las propiedades reológicas del champú de nim y lograr un producto con mejor atractivo estético.

### III.1.2.6. Altura y estabilidad de la espuma

Uno de los elementos esenciales de los parámetros a estudiar en la evaluación de un champú es la espuma y su estabilidad, ya que es de gran importancia para el consumidor.

Los resultados obtenidos para el champú de *A. indica* a tiempo 0 indican que no hubo diferencias numéricas entre sus lotes (**Tabla 3**), por tanto no fue posible aplicar análisis estadístico a este parámetro. No obstante los valores demuestran que el nivel de espuma es adecuado y estable, no observando variabilidad entre los lotes. Este parámetro se comporta similar a los champús herbolarios mencionados con anterioridad. Se plantea que la espuma por encima de 100 mL es más estable y compacta, lo que está en correspondencia al valor obtenido para champú de *A. indica* (200 - 205 mL).<sup>57</sup>

**Tabla 3.** Altura y estabilidad de la espuma del champú de hojas de *A. indica* (tiempo 0)

Altura y estabilidad de la espuma (mL)	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
Tiempo 1 min	205	205	205	205
Tiempo 4 min	204	204	204	204

### III.3. Determinación de la calidad microbiológica del champú de hojas de *A. indica*

Los ensayos microbiológicos aplicados a los cuatro lotes de champú de hojas de *A. indica* a tiempo 0 se realizaron por la instructiva INS 01.148T Análisis microbiológico a materias primas y producto terminado no estéril por el método de placa vertida del Laboratorio Farmacéutico Oriente de Santiago de Cuba. Se obtuvo como resultado la no presencia de bacterias, hongos, bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis y la ausencia de *salmonella* y de *escherichia coli*. Por tanto, el cumplimiento de los límites microbiano especificados para el cosmeceútico elaborado, evidencian la calidad de la materia prima utilizada, la efectividad del preservo y el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura. Sin embargo, resulta cuestionable el empleo en la formulación del champú de hojas de nim del formol como preservo ya que se informa en la literatura los daños que este puede traer a la salud humana.<sup>75</sup>

### III.4. Evaluación de la estabilidad del champú de hojas de *A. indica*

La estabilidad de los productos cosmecéuticos al igual que los medicamentos representa un importante eslabón en el desarrollo y formulación de un nuevo producto ya que son una parte indispensable para su registro. Es por ello que los estudios de estabilidad permiten definir las condiciones de almacenamiento en el envase propuesto y establecer el tiempo de vida útil, empleando métodos adecuados a fin de comprobar la estabilidad química, física-química y microbiológica del producto.

En la presente investigación se desarrolló un estudio de estabilidad durante 15 días de cuatro lotes de champú medicinal del nim almacenado en un recipiente de vidrio color ámbar a temperatura ambiente. Para evaluar la influencia de los factores tiempo y lote se realizó un análisis de varianza de clasificación simple, así como una comparación de medias a través de la prueba de Tukey para mínimas diferencias significativas (LSD, acrónimo en inglés).

#### III.4.1. Estabilidad físico-química

##### III. 4.1.1 Características organolépticas

Teniendo en cuenta las condiciones de almacenamiento previstas para el champú durante el periodo que duro el estudio de estabilidad (15 días) se pudo observar (**Tabla 4**) que la apariencia de la formulación se mantuvo constante para cada lote al igual que el resto de los parámetros organolépticos evaluados. Por tanto, cada lote conservó el olor agradable, característico del aromatizante que se utilizó para su elaboración y el color ámbar pardo oscuro aportado por del principio activo extracto hidroalcohólico de hojas de nim. Además, mantuvo una transparencia clara y apariencia homogénea y sin grumos, propia de este tipo de productos, lo que indica la ausencia de alguna incompatibilidad de solubilidad durante el tiempo de almacenamiento.

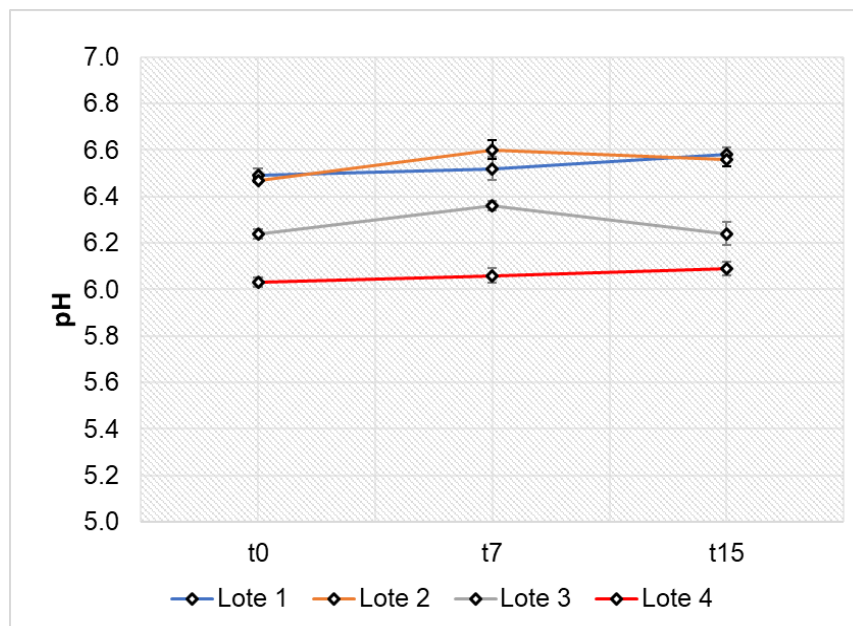
**Tabla 4.** Características organolépticas del champú de hojas de *A indica* durante 15 días

Característica organoléptica	Lotes	t0	t7	t15
Color	1	Ámbar pardo oscuro		
	2			
	3			
	4			
Olor	1	Agradable		
	2			
	3			
	4			
Transparencia	1	Claro		
	2			
	3			
	4			
Apariencia	1	Homogéneo y sin grumos		
	2			
	3			
	4			

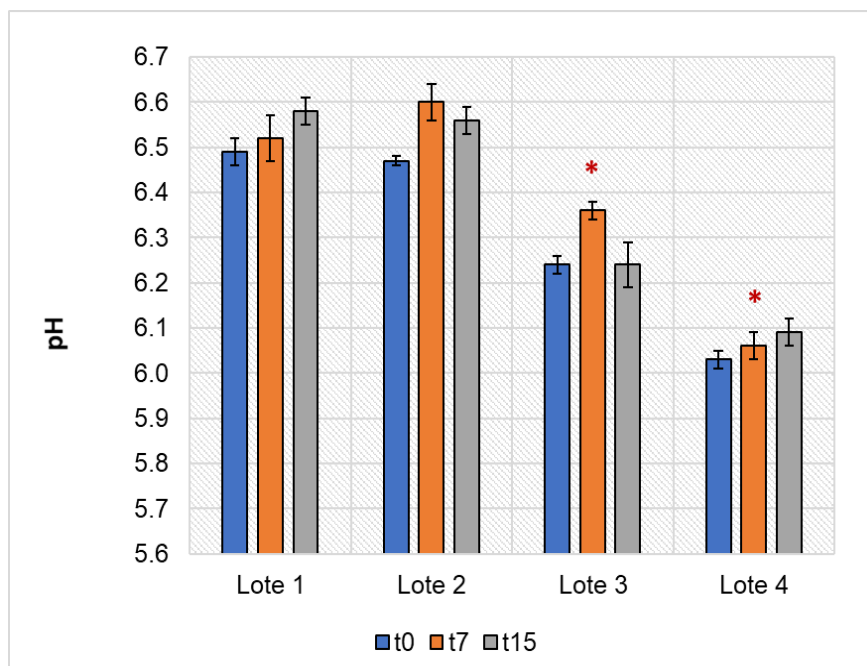
### III. 4.1.2 pH

El pH es un parámetro que tiende a cierta variabilidad en el tiempo y puede dar un indicativo de inestabilidad química o que el regulador de pH empleado no es el adecuado. Para este estudio los valores de pH en el champú del nim para cada lote se comportaron estables sin cambios apreciables como se muestra en la **Figura 8**. Durante los 15 días se observaron valores dentro del rango de 6-7 obtenido para tiempo 0, lo que quedó confirmado al no existir diferencia estadísticamente significativa entre la media de pH entre un nivel de tiempo y otro (**Anexo II.1**). En contraste, el análisis estadístico para el factor lote mostró diferencia estadísticamente significativa **Figura 9** entre la media de pH entre el lote 3 y 4 con respecto a los lotes 1 y 2 que resultaron similares (**Anexo II.2**).

Este comportamiento también fue observado para t0, lo que pudiera estar relacionado a factores propios del proceso tecnológico de elaboración y de la composición de la formulación, como por ejemplo la concentración adecuada de regulador de pH.



**Figura 8.** Valores de pH del champú de hojas de *A. indica* durante 15 días



**Figura 9.** Influencia del factor lote en el parámetro pH del champú de hojas de *A. indica* durante 15 días

\* Indica diferencias significativas (prueba de LSD Tukey,  $\alpha = 0,05$ )



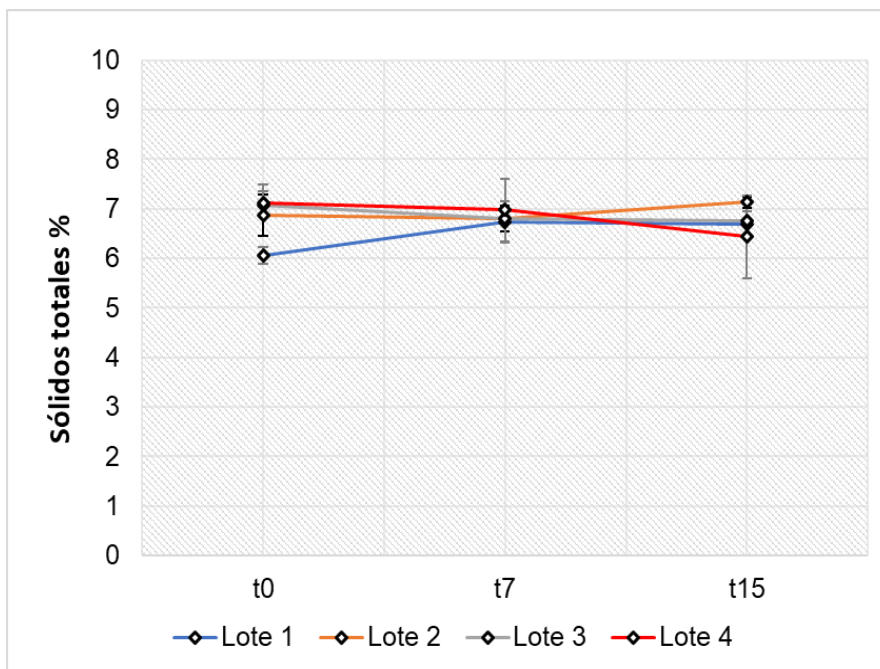
También pude estar dado por los factores asociados a la obtención del extracto de hojas del nim donde se incluye la calidad de la materia prima vegetal y el método de extracción. En el extracto hidroalcohólico del nim pueden estar presentes metabolitos secundarios que afectan el pH a concentraciones variables, tales como fenoles (ácido gálico), cumarinas y flavonoides. Es por ello que el desarrollo y registro de un nuevo producto cosmecéutico a base de especie vegetales medicinales presenta desafíos, pues un extracto es una mezcla compleja de constituyentes.

#### **III. 4.1.3 Sólidos totales**

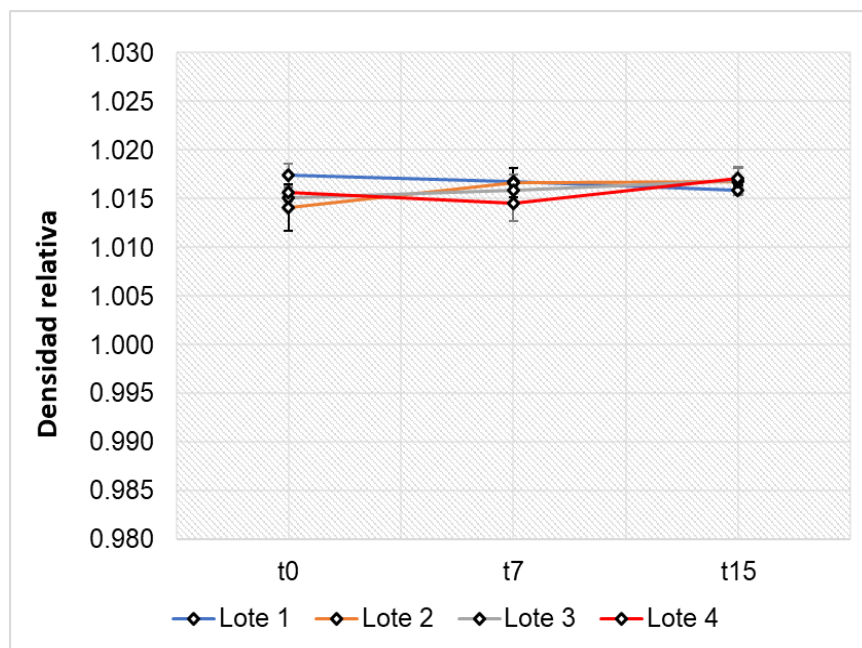
Como se muestra en la **Figura 10** el % de sólidos totales para cada lote es estable, sin cambios apreciables de aumento o disminución. Estos valores durante los 15 días estuvieron en el rango de 6-7 obtenido para t<sub>0</sub>. El análisis estadístico realizado (**Anexo II.3**) muestra que no existen diferencias significativas entre la media de sólidos totales entre un nivel de tiempo y otro, con un nivel del 95 % de confianza. Igual comportamiento fue observado respecto al factor lote ya que no existe diferencia entre la media de sólidos totales entre un nivel de lote y otro aplicando la misma prueba estadística (**Anexo II.4**). Estos resultados confirman que la variable sólido totales se mantiene estable durante 15 días, lo que se corresponde a las características organoléptica donde se observó ausencia de sedimentos o grumos en la formulación.

#### **III. 4.1.4 Densidad relativa**

El parámetro densidad relativa según los valores obtenidos **Figura 11** se mantuvo estable bajo las condiciones de almacenamiento del estudio. Este comportamiento está en correspondencia con lo observado para la variable sólidos totales, ya que cambios en este parámetro puede incidir en la densidad del producto. Los valores se mantuvieron dentro del rango determinado para t<sub>0</sub> (1,0100 – 1,0180). En relación a la influencia del factor tiempo y lote, no existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de densidad relativa entre un nivel y otro para un 95,0% de confianza para la prueba de Tukey (**Anexo II.5 y II.6**). Esto resultados muestran que no se observa durante los 15 días en la formulación alguna señal de inestabilidad.



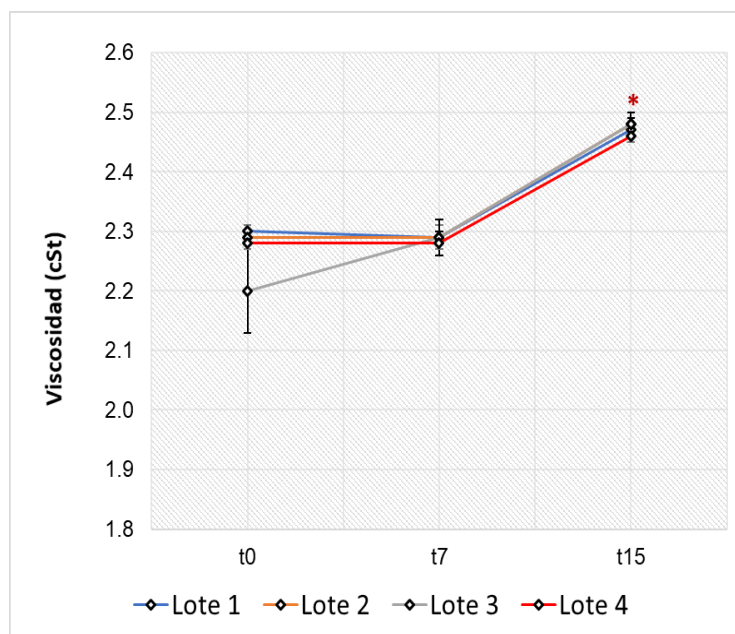
**Figura 10.** Valores de sólidos totales del champú de hojas de *A. indica* durante 15 días



**Figura 11.** Valores de densidad relativa del champú de hojas de *A. indica* durante 15 días

### III. 4.1.5 Viscosidad

En la **Figura 12** se muestran los valores de viscosidad obtenidos para cada lote durante 15 días bajo las condiciones de almacenamiento establecidas. Para los tiempos 0 y 7 días se observó que la viscosidad se mantiene estable, lo que se corroboró en el análisis estadístico. En cambio, para el tiempo 15 días se experimenta una tendencia al aumento de este parámetro con diferencias estadísticas para un nivel del 95% de confianza (**Anexo II.7**). Para el factor lote no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de viscosidad entre un nivel de lote y otro (**Anexo II.8**). El ligero aumento de la viscosidad puede deberse a que esté ocurriendo un proceso de evaporación natural debido a la naturaleza hidroalcohólica del ingrediente activo. También la temperatura es uno de los factores que influyen negativamente en la variabilidad de los datos, las viscosidades de los líquidos disminuyen o aumentan invariablemente de manera marcada al elevarse o disminuir la temperatura. Estos resultados revelan que el champú clasifica como un líquido no viscoso, de ahí que se recomienda realizar un estudio de reformulación para mejorar esta cualidad esencial en la presentación de un champú medicinal.



**Figura 12.** Valores de viscosidad del champú de hojas de *A. indica* durante 15 días

\* Indica diferencias significativas (prueba de LSD Tukey,  $\alpha = 0,05$ )

### III. 4.1.6 Altura y estabilidad de la espuma

La altura y estabilidad de la espuma se comportó de manera estable para cada lote de la formulación durante los 15 días del estudio. Como fue planteado anteriormente para este parámetro no se aplicó análisis estadístico. En la **Figura 13** se observa que para el tiempo 15 hay una ligera tendencia a la disminución de la formación de la espuma, lo que pudiera estar relacionado a la concentración empleada de tensoactivo en la formulación o a la pérdida de la capacidad tensoactiva. También puede deberse a incompatibilidades entre los excipientes que se van acentuando con el tiempo.



**Figura 13.** Altura de la espuma del champú de hojas de *A. indica* durante 15 días

### III.4.2. Estabilidad microbiológica

La estabilidad microbiológica de los lotes de champú de *A. indica* se mantuvo durante los 15 días de estudio. Los resultados indicaron la no presencia de bacterias, hongos, bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis y la ausencia de *salmonella* y de *escherichia coli*, tampoco se detectaron otros microorganismos patógenos que puedan afectar la calidad del producto. Además de la acción protectora del formol como preservante en la formulación, la presencia del extracto hidroalcohólico de hojas de nim en el champú

puede contribuir a la estabilidad microbiológica observada. Numerosos estudios han documentado la acción antibacteriana del árbol del nim, aspecto que se encuentra discutido en el capítulo I.

Durante el periodo de estudio se observa que la viscosidad y la altura de la espuma tienen un comportamiento ligeramente diferente que lo observado para el t0. Los restantes parámetros físico-químicos se mantuvieron dentro del rango obtenido para el t0 para todos los lotes del champú de *A. indica* almacenados en el envase ámbar de cristal de 1L. También se evidencia cumplimiento de los límites microbiológicos para una solución no estéril. Estos resultados constituyen un punto de partida para el desarrollo de un champú medicinal de hojas de nim con características cosmeceúticas apropiadas y atractivas para el tratamiento de la pediculosis en el humano.

# Conclusiones



---

---

## CONCLUSIONES

1. Los parámetros de calidad físico-químicos del champú de hojas de *A. indica* a tiempo cero fueron: color ámbar pardo oscuro, olor agradable, apariencia homogénea y sin grumos y transparencia clara, pH 6,03–6,49, porcentaje de sólidos totales 6,06–7,13, densidad relativa 1,0141–1,0171, viscosidad 2,2–2,48 cSt, altura y estabilidad de la espuma 200–205 mL.
2. La calidad microbiológica del champú de hojas de *A. indica* a tiempo cero estuvo dentro de los establecido en la norma para productos líquidos no estériles.
3. La estabilidad físico-química a tiempo 15 días mostró que la viscosidad y la altura y estabilidad de la espuma presentaron una tendencia de un ligero aumento y disminución respectivamente. Los restantes parámetros, así como la calidad microbiológica se mantuvieron estable durante el período de estudio bajo las condiciones de almacenamiento y envase establecidas.

# Recomendaciones





## RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio de estabilidad integral del champú medicinal de hojas nim durante 12 meses de vida de estante a temperatura ambiente.
2. Realizar un estudio de reformulación del champú medicinal de hojas de nim.
3. Evaluar la actividad *in vitro* pediculicida del champú medicinal de hojas de nim.
4. Evaluar la toxicidad dérmica y oftálmica del champú medicinal de hojas de nim en modelos experimentales validados.

Referencias  
Bibliográficas



---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Castañeda P, López S. El pelo: generalidades y enfermedades más comunes. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM. 2018; 61(3): 48-56.
2. Alcalde Pérez M.T. Curso básico. Cuidado dermatofarmacéutico del cabello. Consejo profesional en farmacia comunitaria. Revista Farmacia Profesional. 2011; 25(5): 45- 50.
3. Lodha G. Formulation and Evaluation of Polyherbal Shampoo to Promote Hair Growth and Provide Antidandruff Action. Journal of Drug Delivery & Therapeutics. 2019; 9(4-A):296-300.
4. Chandran S, Vipin KV, Augusthy AR, Lindumol KV, Shirwaikar A. Development and evaluation of antidandruff shampoo based on natural sources. Journal of Pharmacy and Phytotherapeutics. 2013, 1(4): 10-14.
5. Navarro JM, Vidales A, Chávez V, Ramírez AC, Cordona C. Elaboración de un champú a base de plantas naturales. Conciencia Tecnológica. 2003; 21: 44-47.
6. Watcharawit R, Soonwera M. Pediculicidal effect of herbal shampoo against *Pediculus humanus capitis* in vitro. Tropical Biomedicine. 2013; 30(2): 315-324.
7. Heukelbach J, Oliveira FAS, Speare R. A new shampoo based on neem (*Azadirachta indica*) is highly effective against head lice *in vitro*. Parasitology Research. 2006; 99: 353–356.
8. Cáceres PM. Determinación de la calidad microbiológica de cosméticos capilares elaborados a base de compuestos naturales comercializados en Lima Metropolitana. Trabajo de Diploma: Universidad Ricardo Palma, Lima; Perú; 2018.
9. Preethi J, Padmini K, Srikanth J, Lohita M, Swetha K, Rao V. Review on herbal shampoo and its evaluation. Asian Journal of Pharmaceutical Analysis. 2013; 3(4): 153-156.

10. Namita, Nimisha. Formulation and evaluation of herbal shampoo having antimicrobial potential. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013 5 (3): 708-712.
11. Estrada J. NIM Agroindustria salud y medio ambiente. Editorial Científico Técnica, La Habana, Cuba. 2011. pp 17-26.
12. Subapriya R, Nagini S. Medicinal Properties of Neem Leaves: A Review. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*. 2005; 5: 149-156.
13. Bhowmik D, Chiranjy B, Yadav J. Herbal remedies of *Azadirachta indica* and its medicinal application. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2010; 2(1): 62–72.
14. Prasad R, Gangawane AK, Ghorai S. Neem the Wonder Herb: A Short Review. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*. 2019; 3(3): 962-967.
15. Chandra S, Prasad S, Tyagib AK, Kunnumakkarac AB, Aggarwald BB. Neem (*Azadirachta indica*): An indian traditional panacea with modern molecular basis: A Review. *Phytomedicine*. 2017; 34: 14-20.
16. Alzohairy MA. Therapeutics Role of *Azadirachta indica* (Neem) and Their Active Constituents in Diseases Prevention and Treatment. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016: 1-11.
17. Warra AA. Medicinal and Cosmetic Potential of Neem (*Azadirachta indica*) Seed Oil: A Review. *Research and Reviews: Journal of Medicinal Chemistry*. 2012; 1:5-8.
18. Isea GA., Rodríguez IE, Hernández JA. Actividad garrapaticida de *Azadirachta indica* A. Juss. (nim). Artículo de revision: *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2013; 18(2).
19. Webb EC, David M. The efficacy of neem seed extract (*Azadirachta indica*) to control tick infestation in Tswana, Simmentaler and Brahman cattle. *South African Journal of Animal Science*. 2002;32(1):1-6.

20. Domínguez DD. Estabilidad físico-química, química y microbiológica de extractos de hojas de *Azadirachta indica* A. Juss. Trabajo de Diploma. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. Cuba; 2015.
21. González LV. Optimización y caracterización del extracto blando de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss. Trabajo de Diploma. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. Cuba; 2017.
22. Panda S., Nayak M., Biswas N., Formulation and evaluation of herbal powdered shampoo: A Review. *Journal of Pharmaceutical Advanced Research*. 2018; 1(3): 186-189.
23. Forti SM, da Silva N, Neves EC, Alves L, Peixoto DO, dos Santos JM. Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) Acari: Ixodidae em laboratório. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2010; 19(1): 44-8.
24. Ahmad E, Nida LJ, Nagib E. A review of chemical constituents and traditional usage of Neem plant (*Azadirachta indica*): A mini review. *Palestinian Medical and Pharmaceutical Journal*. 2017; 2(2): 75-8.
25. Labrada Y, Cordoví JM, Ledea JL, Rapado M. Caracterización física y química de aceite esencial de *Azadirachta indica* A Juss expuesto a radiación gamma. *Revista Cubana de Química*. 2018; 30(3): 470-482.
26. Malca C, Arón W. Obtención de aceite de semillas de neem (*Azadirachta indica*), mediante el método de prensado en frío para determinar su concentración en azadiractina. Tesis de Diploma. Universidad Nacional "Pedro Ruiz Gallo". Cárdenas Malca, Lambayeque, Perú. 2017.
27. Avalos J. Actividad citotóxica y estudio fitoquímico de los extractos de semilla y hoja de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) de origen regional (Ébano, San Luis Potosí) comparada con la comercializada en la India. Tesis de Posgrado. Universidad Autónoma de Nuevo León, Bolivia. 2014.

28. Parrotta JA, Chaturvedi AN. *Azadirachta indica* A. Juss. Neem, margosa. SOITF-SM-70. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 1994: 66-72.
29. Kumar R. An updated review of pharmacological studies on *Azadirachta indica* (neem). A Review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2018; 5: 5-10.
30. Vikash S, Vaquil. A review on medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). The Pharma Innovation Journal. 2018; 7(4): 648-650.
31. Segelman DF, Segelman AB. Constituents of *Petiveria alliacea* L. Isolation of isoarborinol acetate and isoarborinol cinnamate from leaves. Lloydia. 1975, 38(6): 537.
32. Chowdhary A, Singh V. Geographical distribution, ethnobotany and indigenous uses of neem. Neem. Chapter 2. In, Singh KK (Ed.) Neem, a treatise. IK International Publishing House Pvt Ltd. New Delhi, India; 2009: pp 22-25.
33. Von Szcpaniski CH, Zgorcela KP, Hoyer AG. Isolation, Structure, Elucidation and Synthesis of an Antimicrobial Substance from *Petiveria alliacea* L. Arsenim Forsch .In: Chemical Abstract. 1972; 22(11): 1975-6.
34. Hidalgo MC. Obtención del aceite de semilla de nim por extracción de gasolina natural. Tesis Doctoral. Universidad de Guayaquil, Ecuador, 2002.
35. Betancourt A. Paraíso de la India (*Azadirachta indica* Juss). Desarrollo alcanzado en Cuba por dicha especie. Revista Baracoa. 1972; 2(3-4): 17-23.
36. Parmar B, Balraj, Varshney M, Shah D. Neem oil microemulsion without cosurfactants or alcohols and a process to form the same. U.S. Patent No 6,703,034, 9 Mar. 2004.
37. García DE, Medina MG. Evaluación química de especies no leguminosas con potencial forrajero en el estado Trujillo, Venezuela. Zootecnia Tropical. 2006; 24 (4): 401-15.

38. Venugopalan K, Visweswaran N. Neem (*Azadirachta indica*): Prehistory to contemporary medicinal uses to Humankind, A Review. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2013; 3(7): 505-514.
39. Sujarwo W, Keim AP, Caneva G, Toniolo C, Nicoletti M. Ethnobotanical uses of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.; Meliaceae) leaves in Bali (Indonesia) and the Indian subcontinent in relation with historical background and phytochemical properties. Journal of Ethnopharmacology. 2016; 189: 186-193.
40. Nino-Castellanos CA. Elaboración de jabón artesanal con principio antibacterial natural a base de corteza y hojas de neem (*Azadirachta indica*. [Tesis doctoral]. Universidad industrial de Santander, Bucaramanga, 2018.
41. Giri RP, Gangawane AK, Giri SG. Neem the Wonder Herb: A Short Review. International Journal of Trend in Scientific Research and Development. 2019; 3(3): 962-967.
42. World Health Organization WHO. WHO monographs on selected medicinal plants. Volume 3. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Geneva 27, Switzerland. 2007. ISBN 978 92 4 154702 4.
43. Bijauliya RK, Alok S, Chanchal DK, Sabharwal M, Yadav RD. An updated review of pharmacological studies on *Azadirachta indica* (neem). International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2018; 9(7): 2645-2655.
44. Mahmood DA, Hassanein NM, Youssef KA, Zeid AMA: Antifungal activity of different neem leaf extracts and the nimonal against some important human pathogens. Brazilian J Microbiology. 2011; 42(3).
45. Akin-Osanaiya BC, Nok AJ, Ibrahim S, Inuwa HM, Onyike E, Amlabu E, Haruna E. Antimalarial effect of Neem leaf and Neem stem bark extracts on *Plasmodium berghei* infected in the pathology and treatment of malaria. International Journal of Research in Biochemistry and Biophysics. 2013; 3(1): 7–14.

46. Nahak G, Sahu RK. Evaluation of antioxidant activity of flower and seed oil of *Azadirachta indica* A. juss. Journal of Applied and Natural Science. 2011; 3(1): 78–81.
47. Sithisarn P, Supabphol R, Gritsanapan W. Antioxidant activity of Siamese neem tree (VP1209). Journal of Ethnopharmacology. 2005; 99(1): 109-112.
48. Priyadarsini RV, Manikandan P, Kumar GH, Nagini S. The neem limonoids azadirachtin and nimbolide inhibit hamster cheek pouch carcinogenesis by modulating xenobiotic metabolizing enzymes, DNA damage, antioxidants, invasion and angiogenesis. Free Radical Research. 2009; 43(5): 492-04.
49. Paul R, Prasad M, Sah NK. Anticancer biology of *Azadirachta indica* L (neem): Amini review. Cancer Biology & Therapy. 2011; 12:6, 467-476.
50. Harish G, Chandra KVP, Jagannadha A, Nagini S. Nimbolide a limonoid from *Azadirachta indica* inhibits proliferation and induces apoptosis of human choriocarcinoma (BeWo) cells. Investigational New Drugs. 2009; 27(3): 246-252.
51. Romero R, Morales P, Pino O, Carmeli M. Actividad insecticida de seis extractos etanólicos de plantas sobre moscas blancas. Revista de Protección Vegetal. 2015; 30: 23-28.
52. Patil PR, Patil SP, Mane A, Verma S. Antidiabetic activity of alcoholic extract of Neem(*Azadirachta indica*) root bark. National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology. 2013; 3(2): 142–146.
53. Martinez N, Estrada O, Góngora F. Bioplaguicida de *Azadirachta indica* A. Juss (Nim) y la poda una alternative para el control de *Hypsipyla grandella* Zeller en plantaciones de *Cedrela odorata* L. (cedro rojo). Revista Chapingo. 2010; 16(1): 61-68.
54. Berenguer CA, Alfonso A, Fong O, Domínguez A, Betancourt JE. Toxicidad a dosis repetidas de *Azadirachta indica* A. Juss. (árbol del Nim). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2010; 15(3): 143-151.



- 
55. Bandyopadhyay U, Biswas K, Sengupta A, Moitra P, Dutta P, Sarkar D *et al.* Clinical studies on the effect of Neem (*Azadirachta indica*) bark extract on gastric secretion and gastroduodenal ulcer. *Life Sciences*. 2004; 75(24): 2867–2878.
56. Pai MR, Acharya LD, Udupa N. Evaluation of antiplaque activity of *Azadirachta indica* leaf extract gel—a 6- week clinical study. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004; 90(1): 99-103.
57. Ministerio de Salud Pública MINSAP. Centro para el Desarrollo de la Farmacoepidemiología Formulario Nacional de Medicamentos. Editorial Ciencias Médicas. La Habana, Cuba. 2006. pp 98.
58. Díaz CC, Villafuerte L. Elements influencing the assessment of the electrolytes effect on the extension of a drop of shampoo. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 2012; 43 (2).
59. Gil JF. Evaluació de modificadores reológicos en una formulació de champú como alternativa al uso de cloruro de sodio. Tesis de Maestría. Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador, 2018.
60. Nuevas-Paz L., Álvarez J.C., Suárez A., Sordo L., González L., Acosta Esquijarosa J. Estabilidad físico-química y microbiológica de la corteza fresca de *Mangifera indica* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2012; 17(2): 125-133.
61. García CM, Porto Y, Izquierdo S. Control de la calidad y estudio de estabilidad del paracetamol gotas orales 100 mg/mL. *Revista Cubana de Farmacia*. 2013; 47(1): 17-28.
62. Pérez Y, García O, Placert M. Estabilidad de supositorios de naproxeno para uso infantil y adulto. *Revista Cubana de Farmacia*. 2014; 48(2): 225-238.
63. Ministerio de Salud Pública MINSAP. Órgano de divulgación oficial Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos. RESOLUCIÓN No. 34/2000 NÚMERO 00-19, 2003. Edición ordinaria La Habana.

- 
64. Soler DM, Rodríguez Y, Pérez T, Riverón Y. Estabilidad acelerada de un gel de *Rhizophora mangle* L. (mangle rojo) para heridas y quemaduras. Revista Cubana de Farmacia. 2011; 45(4): 563-574.
65. Ministerio de Salud Pública MINSAP. Medicamentos de origen vegetal. Extractos y Tinturas .Métodos de ensayo. Norma Ramal de Salud Pública 312 (NRSP 312). La Habana; 1991.
66. Vijetha JR, Grace XF, Shanmuganathan S, Chamundeeswari D. Preparation and Evaluation of Polyherbal Shampoo Powder. International Journal of Pharmacy and Biological Sciences. 2013, 3: 60-66.
67. Gubitosa J, Rizzi V, Fini P, Cosma P. Hair Care Cosmetics: From Traditional Shampoo to Solid Clay and Herbal Shampoo, A Review. Cosmetics. 2019; 6(13): 1-16.
68. Al Badi K, Khan SA. Formulation, evaluation and comparison of the herbal shampoo with the commercial shampoos. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences. 2014; 3: 301-305.
69. Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. Vol. 1 Mayo 2005. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Brasília.
70. Castiñeira M. Control de Medicamentos I: Editorial Pueblo y Educación; 1986.
71. Hiba Y, Hanania M, Mosleh N. Formulation and evaluation of herbal shampoo containing olive leaves extract. Review. International Journal of Development Research. 2018; 8(10): 23173-23176
72. Lanziano PA, Mora CE. Efecto de las fragancias en el desempeño sensorial de productos cosméticos tipo champú. Revista Colombiana Ciencias Químicas Farmacéuticas. 2013; 42(2): 260-283.
73. Texeira MA, Rodríguez O, Mata VG, Rodríguez AE. The diffusion of perfume mixtures and the odor performance. Chemical Engineering Science. 2009; 64, 2570.


74. Al-Quadeib B, Eltahir K, Banafa R, Alhadhair L. Pharmaceutical evaluation of different shampoo brands in local Saudi market. Saudi Pharmaceutical Journal. 2018; 26: 98-106.
75. Lefebvre MA, Meuling WJ, Engel R, Coroama MC, Renner G, Pape W, Nohynek G J. Consumer inhalation exposure to formaldehyde from the use of personal care products/cosmetics. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2012; 63(1), 171-176.

# Anexos



## ANEXOS

### Anexo I. Identificación Taxonómica de la especie *A. indica*

 HERBARIO DEL CENTRO ORIENTAL DE ECOSISTEMAS Y BIODIVERSIDAD (BSC)

No. 1

Nombre científico *Azadirachta indica* Juss

Nombre vulgar "Nim"

Familia Simarubaceae

Localidad Daiquiri - Baconao

Prov. San Juan Coord. 18° 15' N

Leg. Daniela Rodríguez Vega

Fecha 9-2-2020 Hábito Arbol

Formación vegetal \_\_\_\_\_

Sustrato \_\_\_\_\_

Fenología \_\_\_\_\_

Altitud \_\_\_\_\_

Det. Felipe Acosta  
Eng. Forstal

## Anexo II. Análisis estadístico

### II.1 ANOVA Simple - pH factor Tiempo

Variable dependiente: pH

Número de observaciones: 36

Factor: Tiempo

Número de niveles: 3

#### Resumen Estadístico para pH

Tiempo	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
0	12	6.3075	0.200006	3.17092%	6.01	6.52	0.51
7	12	6.38417	0.216268	3.38757%	6.02	6.64	0.62
15	12	6.36667	0.223295	3.50725%	6.06	6.6	0.54
Total	36	6.35278	0.209879	3.30374%	6.01	6.64	0.63

Tiempo	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	-0.661962	-1.10428
7	-0.997218	-0.661566
15	-0.294528	-1.40912
Total	-0.882866	-1.73615

#### Tabla ANOVA para pH por Tiempo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0387389	2	0.0193694	0.43	0.6571
Intra grupos	1.50298	33	0.0455449		
Total (Corr.)	1.54172	35			

La tabla ANOVA descompone la varianza de pH en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.425282, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de pH entre un nivel de Tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

#### Tabla de Medias para pH por Tiempo con intervalos de confianza del 95.0%

Tiempo	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
0	12	6.3075	0.0616069	6.21887	6.39613
7	12	6.38417	0.0616069	6.29554	6.4728
15	12	6.36667	0.0616069	6.27804	6.4553
Total	36	6.35278			

#### Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Tiempo

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	12	6.3075	X
15	12	6.36667	X
7	12	6.38417	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 7		-0.0766667	0.213831
0 - 15		-0.0591667	0.213831
7 - 15		0.0175	0.213831

\* indica una diferencia significativa.

Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0.365643	0.696526

**II.2 ANOVA Simple - pH por Lote**

Variable dependiente: pH

Número de observaciones: 36

Factor: Lote

Número de niveles: 4

**Resumen Estadístico para pH**

Lote	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado
1	9	6.53111	0.050111	0.767266%	6.47	6.6	0.13	0.244059
2	9	6.54333	0.06	0.916964%	6.47	6.64	0.17	0.0297681
3	9	6.27889	0.0682723	1.08733%	6.21	6.38	0.17	0.610687
4	9	6.05778	0.0356293	0.588157%	6.01	6.12	0.11	0.364701
Total	36	6.35278	0.209879	3.30374%	6.01	6.64	0.63	-0.882866

Lote	Curtosis Estandarizada
1	-0.805595
2	-0.667892
3	-1.03696
4	-0.390756
Total	-1.73615

**Tabla ANOVA para pH por Lote**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.44539	3	0.481796	160.04	0.0000
Intra grupos	0.0963333	32	0.00301042		
Total (Corr.)	1.54172	35			

La tabla ANOVA descompone la varianza de pH en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 160.043, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de pH entre un nivel de Lote y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

**Tabla de Medias para pH por Lote con intervalos de confianza del 95.0%**

Lote	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
1	9	6.53111	0.0182891	6.50477	6.55745
2	9	6.54333	0.0182891	6.51699	6.56968
3	9	6.27889	0.0182891	6.25255	6.30523
4	9	6.05778	0.0182891	6.03144	6.08412
Total	36	6.35278			

**Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Lote**

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Lote	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	9	6.05778	X
3	9	6.27889	X
1	9	6.53111	X
2	9	6.54333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.0122222	0.070088
1 - 3	*	0.252222	0.070088
1 - 4	*	0.473333	0.070088
2 - 3	*	0.264444	0.070088
2 - 4	*	0.485556	0.070088
3 - 4	*	0.221111	0.070088

\* indica una diferencia significativa.

#### Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	1.00099	0.405035

### II.3 ANOVA Simple - sólidos totales por Tiempo

Variable dependiente: sólidos totales

Número de observaciones: 36

Factor: Tiempo

Número de niveles: 3

#### Resumen Estadístico para sólidos totales

Tiempo	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
0	12	6.77833	0.52343	7.7221%	5.95	7.37	1.42
7	12	6.825	0.364105	5.33488%	6.23	7.4	1.17
15	12	6.75083	0.463945	6.87241%	5.74	7.36	1.62
Total	36	6.78472	0.443154	6.53165%	5.74	7.4	1.66

Tiempo	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	-0.615434	-0.878607
7	-0.330721	-0.397901
15	-1.21392	0.429727
Total	-1.34809	-0.546532

#### Tabla ANOVA para sólidos totales por Tiempo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0337389	2	0.0168694	0.08	0.9220
Intra grupos	6.83976	33	0.207265		
Total (Corr.)	6.8735	35			

La tabla ANOVA descompone la varianza de sólidos totales en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.0813905, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de sólidos totales entre un nivel de Tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

#### Tabla de Medias para sólidos totales por Tiempo con intervalos de confianza del 95.0%

Tiempo	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
0	12	6.77833	0.131423	6.58926	6.9674
7	12	6.825	0.131423	6.63593	7.01407
15	12	6.75083	0.131423	6.56176	6.9399
Total	36	6.78472			



**Pruebas de Múltiple Rangos para sólidos totales por Tiempo**

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
15	12	6.75083	X
0	12	6.77833	X
7	12	6.825	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 7		-0.0466667	0.456157
0 - 15		0.0275	0.456157
7 - 15		0.0741667	0.456157

\* indica una diferencia significativa.

Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0.933715	0.403228

**II.4 ANOVA Simple - solidos totales por Lote**

Variable dependiente: solidos totales

Número de observaciones: 36

Factor: Lote

Número de niveles: 4

**Resumen Estadístico para solidos totales**

Lote	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado
1	9	6.49889	0.419239	6.45093%	5.95	7.02	1.07	0.0528428
2	9	6.92778	0.296048	4.27335%	6.47	7.31	0.84	-0.363184
3	9	6.87222	0.284946	4.14635%	6.59	7.36	0.77	0.885117
4	9	6.84	0.622575	9.10198%	5.74	7.4	1.66	-1.03008
Total	36	6.78472	0.443154	6.53165%	5.74	7.4	1.66	-1.34809

Lote	Curtosis Estandarizada
1	-0.977486
2	-0.858039
3	-0.524852
4	-0.552751
Total	-0.546532

**Tabla ANOVA para solidos totales por Lote**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.0159	3	0.338632	1.85	0.1580
Intra grupos	5.8576	32	0.18305		
Total (Corr.)	6.8735	35			

La tabla ANOVA descompone la varianza de solidos totales en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 1.84994, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de solidos totales entre un nivel de Lote y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

*Tabla de Medias para solidos totales por Lote con intervalos de confianza del 95.0%*

			Error Est.		
Lote	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
1	9	6.49889	0.142614	6.29348	6.7043
2	9	6.92778	0.142614	6.72237	7.13319
3	9	6.87222	0.142614	6.66681	7.07763
4	9	6.84	0.142614	6.63459	7.04541
Total	36	6.78472			

*Pruebas de Múltiple Rangos para solidos totales por Lote*

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Lote	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	9	6.49889	X
4	9	6.84	X
3	9	6.87222	X
2	9	6.92778	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.428889	0.546532
1 - 3		-0.373333	0.546532
1 - 4		-0.341111	0.546532
2 - 3		0.0555556	0.546532
2 - 4		0.0877778	0.546532
3 - 4		0.0322222	0.546532

\* indica una diferencia significativa.

**Verificación de Varianza**

	Prueba	Valor-P
Levene's	1.63893	0.199845

## II.5 ANOVA Simple - densidad relativa por Tiempo

Variable dependiente: densidad relativa

Número de observaciones: 36

Factor: Tiempo

Número de niveles: 3

*Resumen Estadístico para densidad relativa*

Tiempo	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
0	12	1.01555	0.00172548	0.169906%	1.0113	1.0185	0.0072
7	12	1.01592	0.0015002	0.14767%	1.0125	1.0176	0.0051
15	12	1.01663	0.000910669	0.0895777%	1.0154	1.0185	0.0031
Total	36	1.01603	0.00145206	0.142915%	1.0113	1.0185	0.0072

Tiempo	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	-1.28042	2.43128
7	-1.39657	0.725973
15	1.57062	0.627482
Total	-2.511	3.34617

*Tabla ANOVA para densidad relativa por Tiempo*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.00000716722	2	0.00000358361	1.77	0.1853
Intra grupos	0.0000666292	33	0.00000201907		
Total (Corr.)	0.0000737964	35			

La tabla ANOVA descompone la varianza de densidad relativa en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 1.77489, es el cociente entre el estimado

entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de densidad relativa entre un nivel de Tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

*Tabla de Medias para densidad relativa por Tiempo con intervalos de confianza del 95.0%*

			Error Est.		
Tiempo	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
0	12	1.01555	0.00041019	1.01496	1.01614
7	12	1.01592	0.00041019	1.01533	1.01651
15	12	1.01663	0.00041019	1.01603	1.01722
Total	36	1.01603			

*Pruebas de Múltiple Rangos para densidad relativa por Tiempo*

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	12	1.01555	X
7	12	1.01592	X
15	12	1.01663	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 7		-0.000366667	0.00142373
0 - 15		-0.001075	0.00142373
7 - 15		-0.000708333	0.00142373

\* indica una diferencia significativa.

Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0.951373	0.396549

## II.6 ANOVA Simple - densidad relativa por Lote

Variable dependiente: densidad relativa

Número de observaciones: 36

Factor: Lote

Número de niveles: 4

*Resumen Estadístico para densidad relativa*

Lote	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado
1	9	1.01664	0.000939563	0.092418%	1.0154	1.0185	0.0031	1.08442
2	9	1.01578	0.00191623	0.188647%	1.0113	1.0176	0.0063	-2.19455
3	9	1.01596	0.0013135	0.129287%	1.0145	1.0185	0.004	1.34466
4	9	1.01574	0.00153306	0.15093%	1.0125	1.0182	0.0057	-1.01357
Total	36	1.01603	0.00145206	0.142915%	1.0113	1.0185	0.0072	-2.511

Lote	Curtosis Estandarizada
1	0.503369
2	2.33286
3	0.293254
4	1.60309
Total	3.34617

*Tabla ANOVA para densidad relativa por Lote*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.00000475417	3	0.00000158472	0.73	0.5391

Intra grupos	0.0000690422	32	0.00000215757		
Total (Corr.)	0.0000737964	35			

La tabla ANOVA descompone la varianza de densidad relativa en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.734494, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de densidad relativa entre un nivel de Lote y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

*Tabla de Medias para densidad relativa por Lote con intervalos de confianza del 95.0%*

Lote	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
1	9	1.01664	0.000489622	1.01594	1.01735
2	9	1.01578	0.000489622	1.01507	1.01648
3	9	1.01596	0.000489622	1.01525	1.01666
4	9	1.01574	0.000489622	1.01504	1.01645
Total	36	1.01603			

*Pruebas de Múltiple Rangos para densidad relativa por Lote*

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Lote	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	9	1.01574	X
2	9	1.01578	X
3	9	1.01596	X
1	9	1.01664	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0.000866667	0.00187635
1 - 3		0.000688889	0.00187635
1 - 4		0.0009	0.00187635
2 - 3		-0.000177778	0.00187635
2 - 4		0.0000333333	0.00187635
3 - 4		0.000211111	0.00187635

\* indica una diferencia significativa.

#### Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0.499796	0.685078

## II.7 ANOVA Simple - viscosidad por Tiempo

Variable dependiente: viscosidad

Número de observaciones: 36

Factor: Tiempo

Número de niveles: 3

### Resumen Estadístico para viscosidad

Tiempo	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
0	12	2.26667	0.0533144	2.35211%	2.15	2.31	0.16
7	12	2.28667	0.01557	0.680903%	2.27	2.32	0.05
15	12	2.4725	0.0142223	0.575218%	2.45	2.5	0.05
Total	36	2.34194	0.0993355	4.24158%	2.15	2.5	0.35

Tiempo	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	-2.64784	1.58451
7	0.944627	0.198343
15	0.542991	-0.11548
Total	0.783066	-1.26782

Tabla ANOVA para viscosidad por Tiempo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.309206	2	0.154603	141.10	0.0000
Intra grupos	0.0361583	33	0.00109571		
Total (Corr.)	0.345364	35			

La tabla ANOVA descompone la varianza de viscosidad en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 141.099, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de viscosidad entre un nivel de Tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla de Medias para viscosidad por Tiempo con intervalos de confianza del 95.0%

			Error Est.		
Tiempo	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
0	12	2.26667	0.00955557	2.25292	2.28041
7	12	2.28667	0.00955557	2.27292	2.30041
15	12	2.4725	0.00955557	2.45875	2.48625
Total	36	2.34194			

Pruebas de Múltiple Rangos para viscosidad por Tiempo

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	12	2.26667	X
7	12	2.28667	X
15	12	2.4725	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 7		-0.02	0.0331664
0 - 15	*	-0.205833	0.0331664
7 - 15	*	-0.185833	0.0331664

\* indica una diferencia significativa.

Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	1.74992	0.18953

## II.8 ANOVA Simple - viscosidad por Lote

Variable dependiente: viscosidad

Número de observaciones: 36

Factor: Lote

Número de niveles:4

Resumen Estadístico para viscosidad

Lote	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado
1	9	2.35222	0.0891316	3.78925%	2.27	2.48	0.21	0.993535
2	9	2.35444	0.0956702	4.06339%	2.27	2.5	0.23	1.0086
3	9	2.32222	0.130363	5.61371%	2.15	2.49	0.34	0.204838
4	9	2.33889	0.0913023	3.90366%	2.27	2.47	0.2	1.03015
Total	36	2.34194	0.0993355	4.24158%	2.15	2.5	0.35	0.783066

Lote	Curtosis Estandarizada
1	-1.01223
2	-0.94368

3	-0.829246
4	-1.01946
Total	-1.26782

### Tabla ANOVA para viscosidad por Lote

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.00594167	3	0.00198056	0.19	0.9046
Intra grupos	0.339422	32	0.0106069		
Total (Corr.)	0.345364	35			

La tabla ANOVA descompone la varianza de viscosidad en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.186723, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de viscosidad entre un nivel de Lote y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

### Tabla de Medias para viscosidad por Lote con intervalos de confianza del 95.0%

Lote	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
1	9	2.35222	0.03433	2.30278	2.40167
2	9	2.35444	0.03433	2.305	2.40389
3	9	2.32222	0.03433	2.27278	2.37167
4	9	2.33889	0.03433	2.28944	2.38834
Total	36	2.34194			

### Pruebas de Múltiple Rangos para viscosidad por Lote

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Lote	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	9	2.32222	X
4	9	2.33889	X
1	9	2.35222	X
2	9	2.35444	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.00222222	0.131561
1 - 3		0.03	0.131561
1 - 4		0.0133333	0.131561
2 - 3		0.0322222	0.131561
2 - 4		0.0155556	0.131561
3 - 4		-0.0166667	0.131561

\* indica una diferencia significativa.

### Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0.320663	0.810349