

MATERIALES Y MÉTODOS

1.- MATERIALES

1.1- PLANTAS UTILIZADAS PARA LA EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

- Eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill*).
- Cidrón o hierba Luisa (*Lippia citriodora*).
- Limoncillo o malojillo (*Cymbopogon citratus*).

1.2.- ACEITES ESENCIALES EMPLEADOS EN LA CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (CG-EM)

- Aceite esencial de Eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill*).
- Aceite esencial de Cidrón o hierba Luisa (*Lippia citriodora*).
- Aceite esencial de Limoncillo o malojillo (*Cymbopogon citratus*).

1.3.- COMPUESTOS UTILIZADOS EN LA PREPARACIÓN DEL JARABE

1.3.1- COMPUESTOS UTILIZADOS EN LA PREPARACIÓN DE LA FASE ACUOSA

- Componente acuoso: Agua Destilada
- Conservante: Benzoato de Sodio (Bacteriostático) 99% de Pureza
- Propilenglicol
- Sacarosa (Azúcar Montalbán, Venezuela)

1.3.2.- COMPUESTOS UTILIZADOS EN LA PREPARACIÓN DE LA FASE ACUOSA

- Alcohol Etílico
- Aceite esencial de Eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill*).

Composición

1,8 Cineol (76,09%)

α - pinene (6,43%)

β - pinene (0,13%)

α - phellandrene (0,47%)

Linalool (0, 23%)

β - fenchyl alcohol (5,49%)

α - terpinenyl acetate (7,52%)

- Aceite esencial de Cidrón o hierba Luisa (*Lippia citriodora*).

Composición

Z - Citral (30,06%)

Geraniol (12,60%)

Geranial (34,78%)

Linanool (1,47%)

Citronella (0,57%)

Geranyl Acetate (1,93%)

Nerol (2,73%)

- Aceite esencial de Limoncillo o malojillo (*Cymbopogon citratus*).

Composición

1,8 Cineole (0,1%)

β- pinene (9,8%)

Linalool (1,36%)

Citronella (0,12%)

Geraniol (6,46%)

Cidral (28,39%)

Geranial (33,79%)

Juniper camphor (4,62%)

2.- INSTRUMENTOS

- Balanza Analítica OHAUS Adventure
- Licuadora Industrial LQ-4ID (METVISA ,Brasil)
- Equipo Clevenger (Destilador por arrate con vapor)(Laboratorio de Farmacognosia)
- Cromatógrafo de Gases Hewlett Packard 6890 (ANTECK, Alemania)
- Agitador MRVS-09 (Merck, Alemania)

3.- METODOS Y PROCEDIMIENTOS

3.1.- PREPARACION PREVIA DEL MATERIAL VEGETAL

Las hojas frescas de *Eucalyptus globulus* Labill, *Lippia citriodora* y *Cymbopogon citratus* fueron adquiridas en el Mercado Principal del Estado Mérida y llevadas al Laboratorio de Farmacognosia de la facultad de farmacia de la Universidad de Los Andes.

3.2.- OBTENCIÓN Y AISLAMIENTO DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites se obtuvieron utilizando la técnica de destilación por arrastre con vapor usando la trampa de clevenger (**figura 1**). Este aparato está compuesto de un balón, donde se deposita la materia prima previamente deshojada y pesada, exactamente 600 gramos de cada planta, para luego ser licuada con una cantidad determinada de agua pura. El balón es calentado constantemente y el aceite esencial con el agua presente se evapora continuamente. El condensador va acoplado al balón a través de una conexión en forma de D que permitirá acumular y separar el aceite esencial de la mezcla condensada. El agua condensada regresa al balón por el rebose de la conexión [13]. Una vez obtenidos los aceites se guardaron y el exceso de humedad se eliminó con sulfato de sodio anhidro y fueron almacenados a 4°C para su posterior análisis.



Figura 1 Equipo Clevenger

3.-IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DE CADA ACEITE ESENCIAL

La identificación de los componentes de los aceites esenciales se realizó en un equipo marca Hewlett Packard 6890 equipado con columna de fenil-metilpolixilosano (HP-5) y un detector de masas Hewlett Packard MSD 5937. El método consiste en introducir la muestra en la cámara de inyección, el gas inerte pasa a través de un regulador de presión y llega a la cámara de inyección, arrastrando desde allí la muestra a la columna. Los componentes de la muestra se separan a medida que pasan por la columna, emergen de ésta a intervalos (característicos de cada componente) y pasan a un detector que manda una señal a un registrador. Finalmente el gas inerte pasa a través de un medidor de flujo y sale a la atmósfera y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna ver **(figura 2)**. [10]

Esta técnica proporciona valiosísima información sobre el número de componentes de cada esencia, porcentaje de los mismos y mediante los tiempos de retención relativos a sustancias conocidas, y así fue posible identificar los componentes desconocidos en cada aceite esencial, usando la base de datos Wiley MS Data Library 6th edición

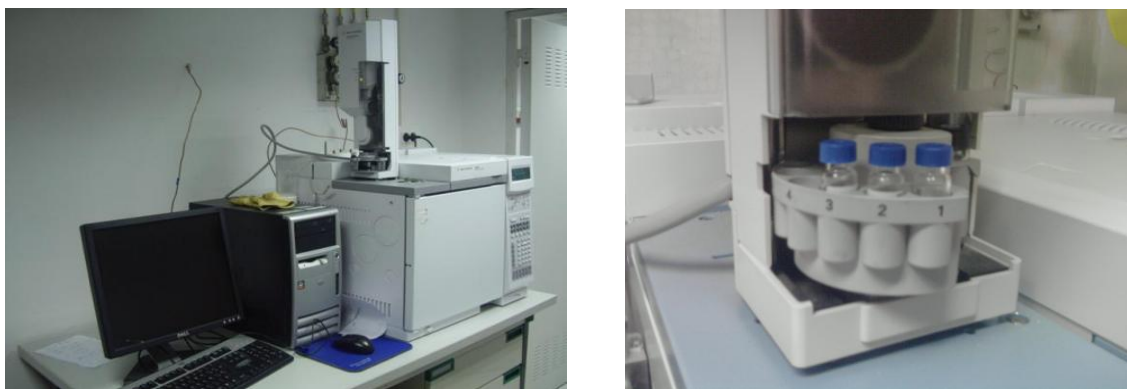
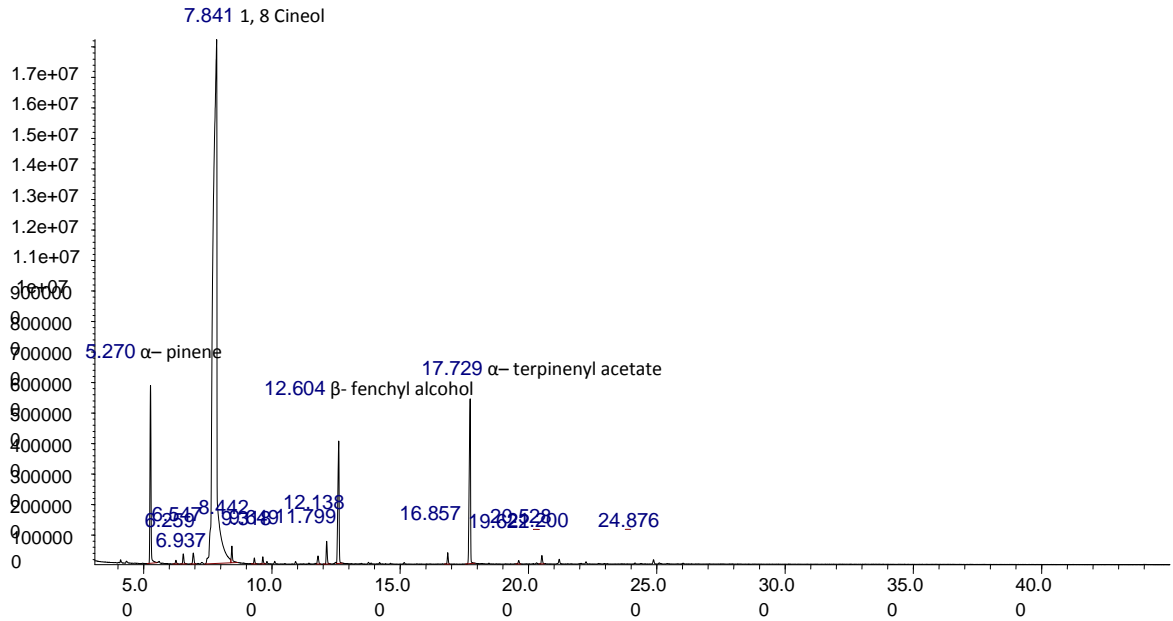


Figura 2 Cromatógrafo de Gases marca Hewlett Packard 6890

COMPONENTES IDENTIFICADOS

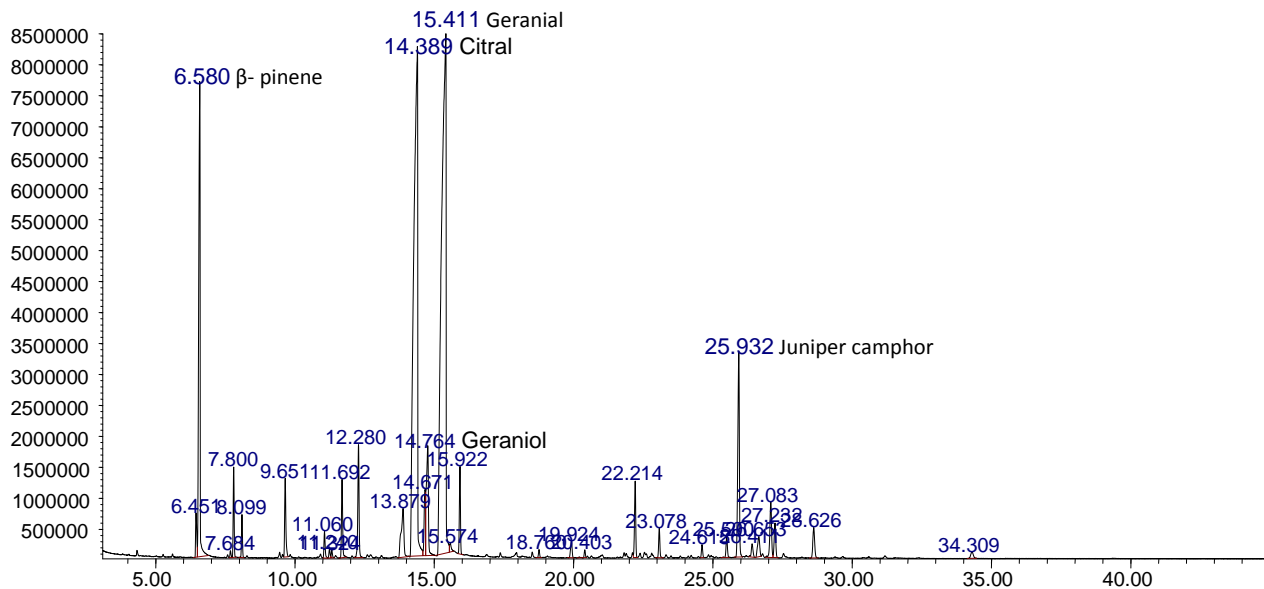
1. Cromatograma del aceite esencial del eucaliptus



Lista de Componentes del aceite esencial del Eucaliptus

Tiempo de retención	Compuesto	Área (%)
5.270	α - pinene	6.43
7.841	1,8 Cineol	76.09
12.604	β - fenchyl alcohol	5.49
17.729	α - terpinenyl acetate	7.52
6.259	β - pinene	0.13
6.939	α - phellandrene	0.47
9.649	Linalool	0.23

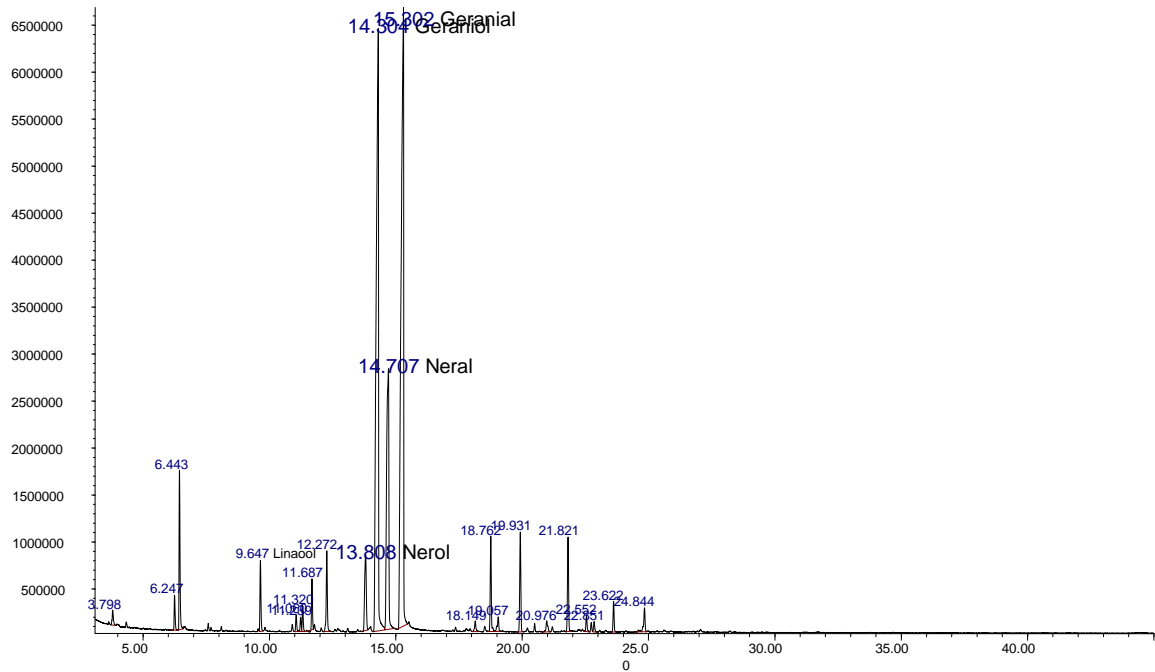
2. Cromatograma del aceite esencial del Limoncillo



Lista de Componentes del aceite esencial del Limoncillo

Tiempo de retención	Compuesto	Área (%)
14.395	Cidral	28.39
15.416	Geranial	33.79
14.764	Geraniol	6.46
6.580	β - pinene	9.8
9.653	Linalool	1.36
25.932	Juniper camphor	4.62
7.681	1,8 Cineole	0.1

3. Cromatograma del aceite esencial del Cidrón



Lista de Componentes del aceite esencial del Limoncillo

Tiempo de retención	Compuesto	Área (%)
14.708	Geraniol	12.60
15.303	Geranial	34.78
14.307	Neral o citral	30.06
13.809	Nerol	2.73
9.646	Linalool	1.47
11.322	Citronella	0.57
18.761	Geranyl Acetate	1.93

4.- PREPARACIÓN DEL JARABE

Preparación de la Fase Acuosa

La disolución de la sacarosa se preparó mediante agitación, este método consiste en colocar agua de la fórmula en un recipiente, luego se agregó el benzoato de sodio para inhibir el crecimiento de bacterias actuando como conservante, utilizando un agitador en 370 revoluciones por minuto se fue incorporando el azúcar lentamente durante diez minutos para evitar un aumento excesivo de la viscosidad, aumentamos hasta 600 revoluciones por minuto para obtener disolución total y la viscosidad deseada. Con el fin de darle transparencia al jarabe se usó un vehículo codisolvente en este caso es el propilenglicol, con el objeto de facilitar la disolución de componentes alcohol-solubles.

Preparación de la Fase Orgánica

Con el fin de poder incorporar los aceites esenciales se procedió a agregar de manera intermitente y lentamente cada uno de ellos al alcohol etílico agitando de manera continua para que se mantuviera en una sola fase sin sobrenadantes.

La obtención del jarabe se hace agregando muy lentamente la fase orgánica a la fase acuosa que se encuentra en constante agitación, hasta no haber distinción entre las fases es decir que sea límpido (ausencia de partículas).

Envasado

Una vez concluida la preparación del jarabe se procede a envasar, en frascos Ámbar Boston de Polietilentereftalato (PET) de 120ml con tapa Pilfer proof con falda y Precinto.



Figura N° 3

Etiquetado

Una vez envasado el jarabe se procede a etiquetarlo a fin de identificarlo y hacer constar la fecha de caducidad, vía de administración y contenido expresado en peso y volumen.

5.- FORMULACIÓN DEL JARABE

Cada 100ml contiene: Aceite esencial de Eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill*) 1ml (Principio Activo), Aceite esencial de Cidrón o hierba Luisa (*Lippia citriodora*) 0,25ml (Principio Activo), Aceite esencial de Limoncillo o Malojillo (*Cymbopogon citratus*) 0,25ml (Principio Activo), Alcohol Etílico 15ml (Disolvente), Propilenglicol 10ml (Codisolvente), Benzoato de Sodio 1gr (Conservante), Sacarosa 50gr (Edulcorante y viscosante), Agua Purificada c.s.p 40,98ml.

ANEXOS



PREPARACIÓN PREVIA DEL MATERIAL VEGETAL



OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

ELABORACION DEL JARABE MEDICAMENTOSO



