

Instituto de Farmacia y Alimentos
Universidad de La Habana

EVALUACIÓN DE UNA ZEOLITA NATURAL MODIFICADA Y DECOLORADA COMO ANTIMICROBIANO

Iliana Perdomo López,¹ Zulia Weng Alemán,² Dania Montero Garnache,³ Antonio Iraizoz Colarte,⁴ Gerardo Rodríguez Fuentes⁵

RESUMEN

Se desarrolló una metodología para la decoloración de una zeolita natural modificada con la utilización de ácido ortofosfórico al 100 %. Se le realizó al producto obtenido un control químico, el cual no presentó cambios en su estructura por la decoloración, lo que se corroboró mediante la determinación de su actividad antimicrobiana *in vitro* frente a cepas microbianas grampositivas y gramnegativas, así como *Candida albicans*. Se comprobó que la concentración mínima inhibitoria es del 10 % para el producto activo. Con la materia prima obtenida se prepararon suspensiones para la candidiasis bucal con 0,6; 0,8 y 1,0 % de hidroxipropilmetil celulosa como agente suspensor. Según el estudio de estabilidad física, la formulación B con 0,8 % de hidroxipropilmetil celulosa presenta los mejores resultados hasta los 60 d de estudio.

Descriptor DeCS: CEOLITAS/química; EVALUACION DE MEDICAMENTOS.

Es frecuente la incidencia en la población infantil y en pacientes inmunodeprimidos la afección por candidiasis bucal, la cual al no ser tratada correctamente corre el riesgo de evolucionar a una candidiasis sistémica.¹

El tratamiento utilizado en estos casos es el de suspensiones de nistatina, pero como tiene un precio de compra elevado para nuestra Industria Farmacéutica y es de gran inestabilidad en el mercado, se

pensó en utilizar un producto activo zeolítico (Paz-ZZ) en la elaboración de suspensiones por poseer una acción antimicrobiana de amplio espectro y en el que se incluye la *Candida albicans* (Cruz A, Perdomo I, Iraizoz A, Rodríguez G. Medicamentos antisépticos elaborados a partir de una zeolita natural modificada. Trabajo de Diploma. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. 1994 y Almaguer Z, Perdomo I, Montero D,

¹ Doctora en Ciencias Farmacéuticas. Profesora Asistente.

² Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Instituto Nacional de Higiene y Epidemiología.

³ Licenciada en Ciencias de los Alimentos. Profesora Asistente.

⁴ Doctor en Ciencias Farmacéuticas. Profesor Titular.

⁵ Doctor en Ciencias Físicas. Investigador Titular. Instituto de Materiales y Reactivos.

García O, Iraizoz A. Estudio de preformulación para el diseño de una crema vulvar antimicrobiana. Tesis para optar por el título de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. 1996).

Existen referencias de la utilización de zeolitas como antimicrobianos, pero ninguna responde a este tipo de aplicación.²⁻⁶

Como el Paz-ZZ presenta color gris verdoso propio de la zeolita natural de origen, no le confiere a los medicamentos elaborados a partir de él las mejores propiedades organolépticas, por lo que en nuestro trabajo nos proponemos:

- Realizar la decoloración del Paz-ZZ.
- Evaluar la calidad química del producto obtenido (ZZ-Opaz).
- Realizar un estudio para el diseño de un medicamento en forma de suspensión.
- Evaluar la calidad del producto terminado.

MÉTODOS

Se sometió 1 kg de zeolita natural beneficiada (NZ) en polvo a un tratamiento con una solución de ácido ortofosfórico al 100 % para eliminar los iones Fe^{3+} responsables de la coloración de la materia prima.

Posteriormente se realizaron lavados sucesivos con el objetivo de eliminar el ácido ortofosfórico residual y alcanzar un pH neutro; después de decolorada la materia prima se procedió al intercambio con $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1 M para obtener el producto activo ZZ (ZZ-Opaz). Se realizó la determinación de sulfato en el agua de lavado por una técnica analítica cualitativa reacción del Hepar.⁷

Se procedió a la evaluación de la materia prima y se utilizó como patrón de comparación la materia prima de zeolita natural

beneficiada para conocer si el proceso de decoloración provoca cambios en él; se le realizó el control químico, por fluorescencia de rayos X en un espectrómetro secuencial de rayos X modelo VRA-30; para la calibración se hizo uso de la zeolita base Tasajera (NZ). Se determinó la concentración mínima inhibitoria de la materia prima ZZ-Opaz por el método de difusión en doble capa, en el que se utilizaron cepas microbianas como: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Salmonella typhimurium*, ATCC 14028; *Escherichia coli* ATCC 25932; *Bacillus subtilis* ATCC 6633; *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228; *Staphylococcus epidermidis* (cepa salvaje); *Shigella sonnei* ATCC 25931; *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048; *Enterobacter freundii* ATCC 8090; *Proteus vulgaris* ATCC 13315; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, así como cepas de *Candida albicans* ATCC 10231; *Candida albicans* 3153A; *Candida albicans* 6838. Los inóculos de los distintos grupos de microorganismos se prepararon arrastrando la biomasa obtenida en la superficie de una cuña de medio agarizado, previamente activado (14 h) con solución salina estéril; se ajustó su densidad óptica en Specol 11 a 480 nm a valores entre 0,11-0,13, lo que corresponde a una concentración aproximada de 10^6 células por mL. Se prepararon frascos Erlenmeyers con 20 mL de medio de cultivo: agar nutriente modificado (para las bacterias) y agar saboraud-dextrosa modificado (para la *Candida albicans*) previamente esterilizados y suplementados con 5, 10, 15 % de la materia prima. Se vertió el contenido de los frascos Erlenmeyers a las placas de Petri previamente rotuladas. Una vez modificado el medio se incubaron las placas a 37 °C durante 24 h para garantizar esterilidad. La siembra se realizó por disección con espátula de Drigalsky a partir de los inóculos preparados. El estudio se

efectuó por triplicado y las observaciones se hicieron a las 48 h.

Formulaciones ensayadas y evaluación de la estabilidad física de las suspensiones. Se diseñaron 3 formulaciones de suspensiones donde se emplea hidroxipropilmetil celulosa (HPMC) como agente suspensor, a 3 porcentajes diferentes y sorbitol como agente humectante, utilizándose el método de dispersión para la preparación de éstas.

Las formulaciones ensayadas fueron las siguientes:

- *Formulación A*
ZZ-Opaz 10 %
HPMC 0,6 %
Sorbitol 10 %
Mezcla de metil-propil-parabenos (9:1)
Agua destilada csp
- *Formulación B*
ZZ-Opaz 10 %
HPMC 0,8 %
Sorbitol 10 %
Mezcla de metil-propil-parabenos (9:1)
Agua destilada csp
- *Formulación C*
ZZ-Opaz 10 %
HPMC 1,0 %
Sorbitol 10 %
Mezcla de metil-propil-parabenos (9:1)
Agua destilada csp

Se realizó la evaluación de la estabilidad física de las suspensiones recién elaboradas y durante 60 d, determinándose el factor de sedimentación, redispersabilidad, reología y pH. El factor de sedimentación se determinó utilizando probetas de fondo plano de 25 mL de capacidad, en las cuales se adicionó la suspensión recién elaborada y se mantuvieron estáticas durante el tiempo de estudio. Se procedió a medir en el tiempo la cantidad de partículas sedimentadas que aparecen en el fondo de cada probeta. las

mediciones se realizaron en los intervalos de tiempo que se indican: t=0,5, 154, 30, 60 min, 2, 3, 24 h, 7, 14, 28, 80 d.

En la redispersabilidad se midió el tiempo en que demora el sedimento formado en el fondo del frasco (120 mL) en redispersarse y el número de bamboleos necesarios a realizar para esta operación. Esta prueba se realiza también en el tiempo, estableciendo como intervalos: t=0,14, 28, 60 y 80 d. Se efectuaron las mediciones reológicas en un rotoviscosímetro digital de rotación, de la marca HAAKE, que lleva incorporado el sistema M5/PK11-1.0. Se trabajó en un ambiente termostataado a 251 °C, con un gradiente de velocidad de 0-300 r.p.m. La determinación del pH se realizó en un pH metro de la marca CG 824 SCHOTT.

RESULTADOS

Se obtuvo el producto activo ZZ (ZZ-Opaz) con un color blanco indicativo del proceso de decoloración ocurrido, el que contiene 1,6 % de cinc, lo cual se comprobó mediante la espectroscopia de fluorescencia de rayos X.

La concentración mínima inhibitoria se logró con el 10 % de la materia prima, resultado éste que se corresponde con los reportados anteriormente para el producto sin decolorar.^{2,3}

En la evaluación de la estabilidad física de las suspensiones se apreció que el factor de sedimentación (medido, observando la cantidad de partículas sedimentadas que aparecen en el fondo de la probeta) varió en función de la viscosidad del sistema para todas las suspensiones (tabla 1).

En la tabla 1 también se presentan los resultados de la redispersabilidad; la formulación C necesitó desde un principio un mayor número de bamboleos para lograr la redispersión a diferencia de las suspensiones A y B.

TABLA 1. Resultados del factor de sedimentación y redispersabilidad

Tiempo	Suspensión A	Suspensión B	Suspensión C
0	0	0	0
5 min	0,04	0,04	0,04
15 min	0,06	0,06	0,06
30 min	0,096	0,06	0,06
60 min	0,16	0,12	0,1
2 h	0,18	0,18	0,3
3 h	0,18	0,2	0,3
4 h	0,18	0,2	0,3
24 h	0,18	0,2	0,3
14 d	0,18	0,208	0,3
28 d	0,18	0,208	0,3
60 d	0,18	0,208	0,3
80 d	0,16	0,18	0,26

Tiempo	Redispersabilidad		
	Suspensión A	Suspensión B	Suspensión C
0	12-15	15-15	20-25
14 d	19-15	15-10	21-20
28 d	16-12	15-12	20-12
60 d	27-20	13-10	22-15

TABLA 2. Resultados de la reología (análisis estadístico de los reogramas)

Suspensión	Tiempo	Modelo	Resultados
A	0	Bingham	R ² =0,96 τ_0 =1,965 Eta=0,1632
			R ² =0,97 τ_0 =1,393 Eta=0,01765
	60 d	Curva inverso Bingham	R ² =0,17 a=-0,5342 b= -876* 1E-06
			R ² =0,39 τ_0 =1,627 Eta=0,007591
B	0	Bingham	R ² =0,97 τ_0 =3,064 Eta=0,03464
			R ² =0,99 τ_0 =2,025 Eta=0,03672
	60 d	Casson	R ² =0,97 τ_0 =1,661 Eta= 0,02456
			R ² =0,97 τ_0 =2,227 Eta=0,01873
C	0	Casson Bingham	R ² =0,99 τ_0 =2,012 Eta=0,06691
			R ² =1,00 τ_0 =2,826 Eta=0,07217
	60 d	Ostwald Casson	R ² =1,00 a=0,8878 Eta=0,08285
			R ² =1,00 τ_0 =1,241 Eta=0,07984

En la tabla 2 se exponen los resultados de la reología correspondientes al análisis estadístico de los reogramas; aquí se aprecia

en la mayoría de los casos un comportamiento de fluido plástico.

En el estudio de determinación del pH, éste se mantuvo prácticamente sin variaciones en el tiempo y entre las formulaciones.

Las 3 formulaciones manifestaron inhibición del crecimiento microbiano.

DISCUSIÓN

Se obtuvo una dosis mínima inhibitoria (10 %) igual a la del producto activo sin decolorar; este resultado está en concordancia con el hecho de que el proceso de decoloración no provocó cambios estructurales en el compuesto, por lo que mantiene sus propiedades antimicrobianas en los estudios microbiológicos *in vitro*. Por tanto el ZZ-Opaz presentó características similares al producto de partida, lo cual hizo que tuviera igual calidad química.

Los resultados obtenidos en la evaluación del factor de sedimentación fueron lógicos, ya que si tenemos en cuenta la ley de Stookes se puede explicar las variaciones de éste en función de los cambios de viscosidad de las formulaciones, debido a que el rango del tamaño de partículas y la densidad de la fase interna son iguales.

El estudio reológico permitió conocer que se necesitó alcanzar un valor mínimo de deformación para lograr la deformación del sistema, lo cual se relaciona con el alto porcentaje de sólidos (10 %) presente en las formulaciones y la estructura tridimensional de la zeolita, la cual está formada por cristales simétricos que forman una estructura externa de agregados.

La determinación del pH no fue un criterio de diferencia entre las formulaciones, pero sí es una medida de la buena estabilidad de las preparaciones.

De los resultados obtenidos de este estudio de estabilidad física hasta los 60 d, se decidió someter al resto de las determinaciones la formulación B (0,8 %) por cumplir con todas las determinaciones

realizadas y presentar valores intermedios de factor de sedimentación, redispersabilidad y viscosidad, sin desechar totalmente la formulación C hasta cumplimentar un período más prolongado de estabilidad.

SUMMARY

A methodology was developed to decolorize a natural zeolite modified by using orthophosphoric acid 100 %. The product obtained was chemically controlled and no changes were observed in its structure as a result of decolorization, which was confirmed by determining its antimicrobial activity *in vitro* in the presence of grampositive and gramnegative microbial strains and of *Candida albicans*. It was proved that the minimum inhibitory concentration is 10 % for the active product. Suspensions were prepared with the raw material obtained for oral candidiasis with 0.6; 0.8 and 1.0 % of hydroxypropylmethyl cellulose as a suspension agent. According to the physical stability study, formulation B with 0.8 % of hydroxypropylmethyl cellulose presents the best results until the 60 days of study.

Subject headings: ZEOLITES/chemistry; DRUG EVALUATION.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nelson W. Tratado de pediatría. 9 ed. La Habana: Edición Revolucionaria;1988:23-5.
2. Shinagawa F. Antibiotic zeolite. Japan Patent 4,938,958. 1990 Mar 7.
3. Hagiwara Giken KK. Zeolite particles haven bacteriocidal properties. Japan Patent 8, 824,746,1990. Nov 9.
4. Shinagawa KK. Eliminación de microorganismos. Japan Patent 2, 295,524.1990 Apr 2.
5. Toray Industries, Inc. Composición de resinas antimicrobianas. Japan Patente 3,39,335. 1991 Apr 5.
6. Toray Industries, Inc. Fibra sintética teñida que tiene propiedades antibacterianas y fungicidas y, proceso para su preparación. Japan Patent 4,826,676.1991 Oct 5.
7. Martí BD, Lucena F. Química analítica cualitativa. Teoría y semimicrométodos. 11ed. México, DF: Editorial Paraninfo;1978:14-6.

Recibido: 3 de mayo de 1999. Aprobado: 4 de junio de 1999.

MC. *Iliana Perdomo López*. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Calle 222 entre 25 y 27. La Coronella, municipio La Lisa. Ciudad de La Habana, Cuba.