

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA, LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

CARRERA DE FARMACIA



“A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD”

Tesis Para Optar Al Título De Licenciado Químico Farmacéutico

TEMA:

Evaluación in vivo de la actividad analgésica y antiinflamatoria y Formulación de un gel del extracto de *Capraria biflora* (perulera) en el periodo noviembre-mayo 2014.

AUTORES:

- Br. Carlos Alberto Martínez Ramos.
- Br. Aroldo José Pérez Reyes.
- Br. Dixon Smith Rivera Huete.

TUTOR:

Lic. Kelvin José Núñez Martínez.

León, junio 2014.

Índice

1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	2
3. Marco Teórico.....	3
1. Información botánica de la especie en estudio.....	3
1.1 Ficha de la planta.....	3
1.2 Material vegetal.....	4
2. Procesos de extracción.....	7
2.1 Maceración simple.....	7
2.2 Maceración acelerada.....	8
2.3 Percolación.....	8
2.4 Clarificación de los extractos y concentración.....	9
3. Animales de experimentación.....	9
3.1 Aspectos a tener en cuenta para la utilización de animales....	10
3.2 Especies más utilizadas.....	10
4. Anatomía de la piel.....	12
4.1 Capas de la piel.....	12
4.2 Vascularización e inervación de la piel.....	14
5. Fitoterapia antiinflamatoria.....	14
6. Analgesia.....	16
7. Formulación.....	17
7.1 Ventajas y desventajas de los geles.....	17
7.2 Características de los geles.....	17
7.3 Mecanismo de formación de los geles.....	18
7.4 Clasificación de los geles.....	19
7.5 Estudios físico químicos y microbiológicos que se realizan a los geles.....	20
7.6 Excipientes.....	20
7.7 Presentaciones.....	21

4. Hipótesis.....	23
5. Materiales y Métodos.....	24
5.1 Procesamiento del material vegetal.....	26
5.1.1 Recolección (ver anexo N^o 3).....	26
5.1.2 Lavado.....	26
5.1.3 Secado (ver anexo N^o 4).....	26
5.1.4 Fragmentación (ver anexo N^o 5).....	26
5.1.5 Extracción (ver anexo N^o 6).....	27
5.1.6 Filtración.....	27
5.1.7 Sólidos totales (ver anexo N^o 8).....	28
5.1.8 Concentración de los extractos.....	28
5.2 Evaluación in vivo de la actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto de <i>Capraria biflora</i> en ratones de variedad BALB/C.....	29
5.2.1 Actividad analgésica (ver anexo N^o 8).....	29
5.2.2 Actividad antiinflamatoria (ver anexo N^o 9).....	29
5.3 Preparación del estándar de referencia.....	30
5.3.1 Solución de diclofenac sódico.....	30
6. Preparación del gel.....	31
6.1 Fórmula cuali-cuantitativa para un lote de 0.450 kg	31
7. Resultados y análisis de resultados.....	32
7.1 Efecto analgésico.....	32
7.2 Efecto antiinflamatorio.....	35
7.3 Cuantificación de flavonoides totales en extracto de <i>Capraria biflora</i>.....	37
7.4 Actividad antiinflamatoria del gel conteniendo extracto de <i>Capraria biflora</i>..	39
8. Conclusiones.....	42
9. Recomendaciones.....	43
10. Referencias Bibliográficas.....	44
11. Anexos.....	46

Agradecimiento.

A Dios fuente de sabiduría, por ser la luz que nos guía a lo largo de este arduo camino.

A nuestros padres por su apoyo incondicional a lo largo de toda nuestra formación profesional.

Al Lic. Kelvin José Núñez quien nos ha dirigido en la estructuración de este trabajo.

A la Lic. Violeta Bravo y Lic. Lady Mejía quienes nos brindaron su apoyo en la parte experimental.

A los colegas Lic. Eddy Fermín Ramos y Lic. José Santos Paz por su apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

A todos aquellos que de una u otra forma fueron participes en la elaboración de este documento.

Dedicatoria.

El presente trabajo está dedicado a mis padres José Rivera, Julia Huete y a mis hermanos ya que ellos han sido mi inspiración en mi carrera y me han apoyado en todo momento también a mis amigos que de una u otra manera han colaborado para que este trabajo se lleve a cabo (*Lic. Dixon Rivera Huete*).

Este nuevo logro está dedicado a mi madre sr: Julia Reyes por su amor y apoyo incondicional en todos estos años, a mis hermanos, amigos y todos aquellos que fueron partícipes para que este proyecto sea una realidad. (*Lic. Aroldo Pérez Reyes*).

A mis padres y hermanos quienes siempre estuvieron animándome y apoyándome en todo momento a quienes les debo este triunfo (*Lic. Carlos Alberto Martínez Ramos*).



1. Introducción

La investigación en plantas medicinales usadas tradicionalmente como antiinflamatorias o en el tratamiento del dolor es una estrategia viable y lógica en la búsqueda de nuevos agentes antiinflamatorios y analgésicos. En la actualidad industrias farmacéuticas e instituciones científicas de todo el mundo realizan esfuerzos encaminados a la obtención de nuevos principios activos naturales para su utilización en terapias complementarias para resolver los problemas de salud que aquejan a la humanidad.

La especie *Capraria biflora*, es una planta con una larga historia en la medicina tradicional, desde épocas antiguas ha sido utilizada como analgésico y antiinflamatorio (Vicet Muro, 2009), en la presente investigación se evaluó dicha actividad utilizando ratones de variedad BALB/C. Lo anterior en base a que la experimentación animal es una actividad que tiene como misión evidenciar la actividad fitomedicinal que pueda presentar una especie vegetal.

En la actualidad hay un sensible aumento de la demanda de fármacos con extractos vegetales estandarizados ya que estos generan confianza al consumidor al no correr el riesgo de consumir dosis muy altas que pueden causar toxicidad, o dosis mínimas que no produzcan el efecto deseado. La búsqueda de nuevos fármacos para el tratamiento del dolor es de especial interés, debido a los efectos adversos que producen los existentes en el mercado farmacéutico.

Retomando lo anterior se consideró factible elaborar un gel con propiedades analgésicas y antiinflamatorias utilizando extracto de las hojas de *Capraria biflora*, que cumpla con los requerimientos de calidad físico-químicos. Establecidos en el RTCA 11.03.39:06 (Reglamento Técnico Centroamericano de Productos Naturales) y de estabilidad RTCA 11.01.04:09.



2. Objetivos Generales:

- I. Evaluación de la actividad analgésica y antiinflamatoria y Formulación de un gel del extracto hojas de *Capraria biflora*

Objetivos Específicos:

1. Determinar in vivo la actividad analgésica del extracto de *Capraria biflora* utilizando el modelo del plato caliente (hot plate) en ratones de variedad BALB/C.
2. Evaluar in vivo la actividad antiinflamatoria de extracto de *Capraria biflora* mediante el método de edema de pata inducido por formalina en ratones de variedad BALB/C.
3. Diseño y formulación de un gel natural conteniendo extracto de *Capraria biflora*.



3. Marco teórico.

1. Información botánica de la especie en estudio.

1.1 Ficha de la planta

Aspectos taxonómicos de Perulera (*Capraria biflora* L).

Clasificación botánica

Nombre científico: *Capraria biflora* L

Familia: *Scrophulariaceae*

Género: *Capraria*

Especie: *C. Biflora*.

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Asteridae*

Nombres comunes: perulera, escobilla, majuito, magüiro.



Descripción Botánica y habitat. Arbusto perenne, hasta 2 metros de altura , los tallos y las hojas con muchos pelos o muy pocos en algunos casos, las ramas alternas hojas alternas en forma de punta de lanza, de 3 a 12 cm de largo y de 0.6 a 2.5cm de ancho, el margen en forma de sierra, con o sin pelos en ambas caras.⁽⁴⁾

Es una maleza común en áreas perturbadas y rondas de cultivos así como las orillas de caminos y carreteras, se pueden encontrar con flores o frutos durante todo el año.

Composición química: En esta planta están presentes metabolitos secundarios como: flavonoides, alcaloides, naftoquinonas (biflorina), iridoides, taninos.⁽⁵⁾

Propiedades y uso.

La medicina Natural le ha atribuido muchos usos medicinales a esta especie, como tónico digestivo, antidiarreico, astringente en las heridas, afecciones ováricas y uterinas, reumatismo, antiinflamatoria y analgésico.⁽⁵⁾

Toxicología.

No se dispone en la literatura de información precisa sobre la toxicidad de esta especie, y aunque se informa que dosis elevadas de extractos de *Capraria biflora*. Pueden producir debilidad general, sueño, rigidez y hasta parálisis muscular.⁽⁵⁾



1.2 Material vegetal.

Recolección.

Para cada planta medicinal existe un momento adecuado para realizar su recolección. La determinación de los principios activos permite establecer con exactitud el tiempo correcto de la recolección. Sin embargo para plantas cuyos principios activos todavía no se conoce puede aplicarse algunas reglas generales.⁽⁶⁾

1. Las cortezas deben ser recogidas en la primavera, en el inicio del verano o en otoño. La atmosfera húmeda facilita la separación de la corteza, estas deben ser retiradas cuidadosamente y deben ser cortadas en segmentos verticales.
2. Los órganos subterráneos: las raíces, tubérculos, y bulbos deben ser recogidos durante el invierno, en el periodo de reposo vegetativo es entonces cuando el contenido de los principios activos alcanza su grado máximo en estos órganos.
3. Las plantas herbáceas y las hojas deben recolectarse cuando se inicia la floración. Algunas plantas permiten más de un corte, la recolección de hojas se hace durante el periodo seco, lo que permite que la planta se regenere durante el periodo de lluvia.
4. Las unidades floridas son recogidas durante la floración y antes de la formación de las semillas.
5. Las frutas se recolectan antes de alcanzar su estado maduro, las semillas son recolectadas después de estar maduras.
6. Los periodos de sequía y lluvia influyen en el contenido de principio activo. Por ejemplo, el contenido de alcaloides disminuye después de la lluvia y el de aceites esenciales aumenta. El contenido de principios activos varía también según el periodo del día y la ubicación geográfica.



Secado.

Es la operación mediante la cual se elimina total o parcialmente el agua u otro solvente de la sustancia que la contiene. La industria farmacéutica utiliza preferentemente, como materia prima el material vegetal seco, lo cual facilita su conservación por periodos de tiempos prolongados, el secado interrumpe los procesos de degradación causados por enzimas o fermentos, impide el desarrollo de microorganismo y las reacciones de oxidación y de hidrolisis, sin embargo como este proceso involucra calor, pueden presentarse perdidas de aceites esenciales y de sustancias volátiles así como el riesgo de degradación de las sustancias termolábiles.⁽⁶⁾

La mayoría de las plantas medicinales pueden ser secadas a temperaturas que varían entre los 30 y 60⁰ C.

La manera como va ser realizado el secado debe determinarse experimentalmente para cada droga vegetal. Un secado lento puede causar alteraciones perjudiciales antes de que el proceso se haya terminado debido a la acción de las enzimas los hongos y las bacterias. Un proceso de secado muy rápido endurece la capa superficial de las células e impide la evaporación del agua que está dentro del órgano lo que propicia la acción de enzimas en su interior.⁽⁶⁾

El proceso de secado puede ser realizado al sol o a la sombra, extendiendo la planta en capas finas en una superficie limpia, sin embargo este proceso no permite un control de la temperatura.⁽⁶⁾

El contenido de humedad de las plantas frescas varia de 60 al 80%, el proceso de secado reduce este contenido a un 0.5 - 12%.⁽⁶⁾



Fragmentación.

Es el proceso de reducción del tamaño de las partículas del material de interés utilizando diversas fuerzas. Tiene como objetivo la disminución del tamaño de las partículas de la droga vegetal para adecuarla a la etapa de extracción. La extracción de una droga entera o dividida en fragmentos gruesos sería incompleta, debido a la pobre penetración del solvente en el tejido vegetal y sería igualmente muy lenta ya que las membranas celulares actúan como barreras que dificultan el proceso de extracción. Una vez triturado estas membranas se encuentran parcialmente destruidas lo que facilita la disolución de los constituyentes celulares en el líquido externo, sin embargo polvos muy finos pueden causar problemas en el proceso de extracción debido a que estos se compactan dificultando el paso del disolvente.⁽⁶⁾

La trituración del material vegetal, independientemente de su naturaleza y del tipo de molino utilizado da como resultado la producción de una cierta cantidad de partículas muy finas, las cuales deben ser separadas, por lo cual esta operación debe ser seguida por el tamizaje del material obtenido. La droga molida se clasifica de acuerdo al tamaño de las partículas las cuales deben ser adecuadas para el proceso de extracción.⁽⁶⁾

La farmacopea brasileña clasifica los polvos en:

1. polvos gruesos: las partículas pasan en su totalidad por un tamiz de 1.70 mm de diámetro.
2. polvos moderadamente gruesos: pasa en su totalidad por un tamiz de 710 μm de diámetro.
3. polvo semi- fino: pasa en su totalidad por un tamiz de 355 μm de diámetro.
4. polvo fino: pasa en su totalidad por un tamiz de 180 μm de diámetro.
5. polvo ultrafino: pasa en su totalidad por un tamiz de 125 μm de diámetro.



Cuando el material vegetal tiene como destino la producción industrial de extractos y tinturas se usan en general los polvos clasificados como “moderadamente grueso” o “semi-fino”, los polvos finos se utilizan en la producción de “te empacado en bolsitas”.⁽⁶⁾

La selección del equipo para la molienda está en función de la naturaleza de la droga vegetal y del tamaño de partículas que se desea obtener. La disminución del tamaño de partículas se consigue básicamente utilizando dos mecanismos: el corte y la trituración.⁽⁶⁾

Los molinos de cuchillas que se utilizan para el corte son los más indicados para la mayoría de las drogas vegetales: hojas, tallos, corteza y raíces. Los molinos que se utilizan para la trituración son los más indicados para las drogas desmenuzables y para las que contienen resinas.⁽⁶⁾

Los molinos de cuchillas poseen en la cámara de molienda láminas afiladas rotativas y fijas, el tamaño de partículas del material molido depende de la malla acoplada en la parte inferior del molino. El número de las láminas rotativas es variable y la velocidad de la turbina influye en la obtención de partículas más finas.⁽⁶⁾

2. Procesos de extracción

Estos varían en función de la escala de producción de la naturaleza y calidad de la materia prima y de la naturaleza del solvente. Pueden ser divididos en dos grupos:⁽⁶⁾

1. procesos que dan como resultado un equilibrio de la concentración entre el soluto y el residuo (maceración simple y maceración acelerada).
2. Procesos que agotan completamente la droga (percolación y extracción en contra corriente)

2.1 Maceración simple:

Consiste en poner en contacto la droga y el solvente durante varios días, se trata de un proceso que da como resultado un equilibrio de la concentración entre la droga y el solvente y depende de factores que están unidos a la droga como: naturaleza, tamaño de



Partículas, contenido de humedad y cantidad; y factores que están relacionados con el solvente como: selectividad y la cantidad. El rendimiento del extracto disminuye cuando la relación droga solvente aumenta. El hinchamiento de la droga es factor importante porque aumenta la permeabilidad de la pared celular y la difusión del solvente.⁽⁶⁾

La gran desventaja del proceso de maceración simple son: la lentitud del proceso (macerar por 15 días) y el hecho de no ser posible la extracción completa de la droga.

2.2 Maceración acelerada:

El proceso a ejecutar en este tipo de maceración es el mismo que en la maceración simple, sólo que en este caso puede variar el medio por el cual se logra la maceración. El tiempo que se desea macerar varía mucho de la maceración simple ya que al utilizar calor se acelera el proceso tomando como referencia que 15 días de maceración simple, es igual a 2 horas en maceración con calor a una temperatura de 75⁰C, esto es en el caso de las plantas y hierbas medicinales. La desventaja de la maceración en calor es que no logra extraer totalmente pura la esencia del producto a macerar, ya que siempre quema o destruye alguna pequeña parte de esta (muchas veces se trata de compuestos termolábiles).⁽⁶⁾

Pero muchas veces, para acortar más los tiempos de extracción y que las substancias pasen el menor tiempo posible a elevadas temperaturas, se hacen extracciones con corriente de vapor.

2.3 Percolación:

Consiste en hacer pasar el solvente a través de la droga hasta su extracción exhaustiva completa. La desventaja principal es el alto consumo de solvente. Por esta razón en condiciones industriales es preferible usar la técnica de re-percolación el cual consiste en hacer circular el mismo solvente a través de la droga por intermedio de bombas este procedimiento aumenta el tiempo de contacto de la droga con el solvente y aumenta la eficiencia del proceso.⁽⁶⁾



2.4 Clarificación de los extractos.

El objetivo de esta etapa es retirar el residuo de droga que a veces queda presente en los extractos así como el material indeseable formado durante el proceso de concentración. La manera más simple de separar los sólidos indeseables del extracto es mediante sedimentación o decantación.⁽⁶⁾

Concentración.

Este proceso busca a aumentar el contenido del sólido en el extracto con la finalidad de: alcanzar un determinado contenido de residuo seco, fabricar extractos blandos y como etapa preliminar en la producción de extracto seco.⁽⁶⁾

Los extractos vegetales se clasifican según su consistencia en: fluidos, blandos y secos. Como el propio nombre lo indica, los fluidos son líquidos y corresponden en general, a las drogas secas en una porción de 1:1(1ml de extracto corresponde a 1 gramo de la droga seca). Los extractos blandos son semisólidos, con contenido de agua alrededor de un 60%, mientras los extractos secos son sólidos, polvos o granulados. Los extractos secos y blandos pueden estar adicionados de ciertos coadyuvantes y sus especificaciones en lo relacionado al contenido de los principios activos.⁽⁶⁾

3. Animales de experimentación.

Los experimentos con animales tienen su base en el hecho de considerar a otras especies como modelos en miniatura de los problemas humanos. Los animales han sido utilizados en muchísimos estudios, pero también en multitud de casos, en que sin su uso, la especie humana habría desaparecido. El uso del animal por parte de los humanos se puede apreciar en diferentes campos, pero principalmente en el área de las ciencias de la salud.⁽⁷⁾

Cada especie animal tiene características propias que pueden convertirse en criterios de elección para el investigador. Obviamente, para realizar un experimento eficaz, deben conocerse esas características.⁽⁷⁾



Si la experimentación se lleva a cabo con determinadas especies, los animales deben ser criados específicamente para ese fin, procediendo de establecimientos registrados y autorizados. Como se trata de un sujeto experimental, también nace el concepto de reactivo biológico: un animal de experiencia, en función del tema de estudio, capaz de dar una respuesta fiable y reproducible, su idoneidad para el estudio debe ser vigilada, para que su uso no sea en vano y los resultados sean fiables. ^(7,8)

3.1 Aspectos a tener en cuenta para la utilización de animales.

1. Instrucción y capacitación del personal profesional y técnico.
2. El estado sanitario de los animales está íntimamente ligado a su capacidad de respuesta.
3. Las condiciones de alojamiento son importantes, es decir, la carga animal por caja. las constantes ambientales controladas, las temperaturas extremas, la falta de renovación del aire, las altas concentraciones de amoníaco, otras, someten a sufrimientos innecesarios e invalidan los resultados desde el punto de vista experimental.
4. Deben realizarse buenas prácticas de sujeción, analgesia y eutanasia, teniendo en cuenta que el animal de laboratorio es un ser vivo y por lo tanto sensible a cualquier procedimiento capaz de causar dolor en el hombre.

3.2 Especies más utilizadas.

Roedores y lagomorfos: Estos animales tienen características generales, que los hacen muy adecuados para su uso en el laboratorio, como su pequeño tamaño, su alta prolificidad, su facilidad de manejo, mantenimiento, etc. De hecho el ratón y la rata son las especies más usadas en el laboratorio. ⁽⁸⁾



Tabla N° 1 Especies más utilizados en ensayos de experimentación.

Roedores y lagomorfos.			
Especie.	Nombre común	Características experimentales.	Usos.
<i>Mus musculus</i>	Ratón.	Muy susceptibles desarrollar tumores. Escasa longevidad. Los albinos son menos nerviosos que los coloreados.	Toxicología: ensayos de administración de dosis, mutagénesis y neogénesis. Inmunología: obtención de anticuerpos monoclonales, modelos de deficiencia, e histocompatibilidad. Oncología, Medicina comparada, Geniatria.
<i>Rattus norvegicus</i>	Rata	El más usado en microcujía. Longevidad de 2 a 3 años.	Toxicología: ensayos de administración de dosis, embriotoxicidad, toxicidad neonatal, teratogénesis, mutagénesis. Farmacología: evaluación de medicamentos. Medicina comparada: modelos de enfermedades: Microcujía, Geniatria
<i>Cavia porcellus</i>	Cobayo	Fácil sensibilización y fácil acceso y eliminación del timo. Alta susceptibilidad a patologías. Favorable anatomía del oído medio.	Inmunología: producción y control de sueros, vacunas. Medicina comparada. Investigación auditiva. Dietética: estudios sobre la vitamina C, ácido fólico, tiamina y aminoácidos.
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Conejo	Inconvenientes: sistema nervioso inestable, fragilidad vascular y ósea, estado samitano poco satisfactorio, sensibilidad a los anestésicos y tendencia a la obesidad.	Inmunología: obtención de anticuerpos. Toxicología: evaluación muscular y ocular. Reproducción: anticonceptivos, embriología y teratología. Farmacología: cardiovascular (ateromatosis)
Camívoros.			
<i>Canis familiaris</i>	Perro	Se utiliza la raza Beagle. Tamaño adecuado. Buen comportamiento.	Toxicología Cirugía Medicina veterinaria.
<i>Felis catus</i>	Gato	Se usan cruces entre Abisinio y Europeo.	Neurología: neuro fisiología, neurofarmacología. Gastroenterología: motilidad e inervación. Sistema respiratorio y otomología. Oncología: leucemia Virología: inmunodeficiencia Parasitología, Medicina veterinaria.



4. Anatomía de la piel.

La piel es el órgano más grande del cuerpo. La piel y sus derivados: cabello, uñas y glándulas sebáceas y sudoríparas, conforman el sistema tegumentario. Entre las principales funciones de la piel está la protección del organismo frente a factores externos y la regulación de la temperatura corporal. Su superficie es ligeramente ácida, el valor pH de la piel es de 5.5, permitiendo el rechazo de patógenos que ocasionan enfermedades.⁽⁹⁾

4.1 Capas de la piel

Epidermis.

La epidermis es la capa más externa de la piel. Tiene un grosor de entre 0.4 y 1.5 mm y está constituida por cuatro capas de células que se renuevan continuamente.⁽⁹⁾

Las células de la base de la epidermis van siendo empujadas gradualmente hasta las capas más superficiales sufriendo cambios en su forma durante esta migración. Este proceso de renovación recibe el nombre de queratinización. La capa córnea superior se va desprendiendo en un proceso constante.⁽⁹⁾

La epidermis es avascular; es decir, no tiene vasos sanguíneos, y en ella podemos encontrar 4 tipos de células:

1. Queratinocitos: que son los principales tipos de células en la epidermis (95% de las células).
2. Melanocitos: sintetizan la melanina, que interviene en la termorregulación local, en la síntesis de vitamina D y en la resistencia a los efectos de la radiación ultravioleta. Esta sustancia es, además, la responsable de que adquiramos el color moreno al exponernos de forma continuada al sol.



3. Células de Langerhans: estas células están involucradas en gran cantidad de respuestas inmunes.
4. Células de Merkel: intervienen en la percepción de la sensibilidad táctil, de ahí que se localice fundamentalmente en la epidermis del pulpejo de los dedos, en el folículo piloso.

Dermis.

Tiene una estructura parecida a la de una malla constituida por tejido fibroelástico. En la dermis podemos encontrar fibras (colágeno, elásticas), células, elementos vasculares, y elementos nerviosos.⁽⁹⁾

En ella se encuentran los anejos cutáneos, que son los siguientes:

1. Pelo: se distribuye por toda la superficie corporal excepto en las mucosas, las palmas y las plantas. Son estructuras flexibles y resistentes constituidas por queratina dura. El proceso de crecimiento del pelo está regulado por factores hormonales; por término medio, un cabello crece unos 0.3 mm al día.
2. Uñas: son placas córneas transparentes constituidas también por queratina dura. Tienen un crecimiento aproximado de 3 mm al mes.
3. Glándulas sebáceas: estas glándulas producen una sustancia llamada sebo, que está formada por grasas, células y ácidos, y cuya misión es engrasar la piel y el cabello como mecanismo de protección.
4. Glándulas sudoríparas:
 - 4.1 Ecrinas: son las encargadas de producir el sudor. La función más importante del sudor es regular la temperatura corporal y responder a estímulos tales como el calor, el estrés, los estímulos del sistema nervioso, etc.
 - 4.2 Apocrinas: localizadas fundamentalmente en la axila, el área genital, la areola y el pezón. El inicio de la secreción de estas glándulas tiene lugar en la pubertad.



Hipodermis.

Constituye el estrato más profundo de la piel. En ella se almacena el tejido adiposo, formado por células llamadas adipocitos, que cumple funciones de aislamiento y de almacén de energía en forma de grasas. ⁽⁹⁾

4.2 Vascularización e inervación de la piel.

La vascularización cutánea interviene de forma activa en los procesos de termorregulación cuando nos sometemos a cambios bruscos de temperatura. ⁽⁹⁾

La inervación de la piel permite a ésta su importante función de ser un órgano sensorial. Para poder captar estímulos externos, está provista de gran cantidad de terminaciones nerviosas que se clasifican en subgrupos, cada uno de los cuales se especializa en captar un determinado tipo de estímulo. Estos subgrupos se encuentran distribuidos en los tres estratos de la piel: epidermis, dermis e hipodermis. ⁽⁹⁾

5. Fitoterapia antiinflamatoria.

Muchas especies vegetales usadas tradicionalmente dadas las propiedades antiinflamatorias y analgésicas, han sido objeto de investigaciones en los últimos años, en aras de evaluar sus usos tradicionales y descubrir los metabolitos responsables de tales acciones. ⁽¹⁰⁾

La respuesta inflamatoria ocurre en tres fases distintas, cada una mediada aparentemente por diferentes mecanismos:

- 1.** Una fase transitoria aguda, caracterizada por vasodilatación local, hiperemia activa e incremento en la permeabilidad capilar.
- 2.** Una fase subaguda tardía, visiblemente caracterizada por un periodo de hiperemia pasiva, infiltración de leucocitos y fagocitos.
- 3.** Una fase proliferativa crónica, en la cual ocurre degeneración de tejidos, lesión endotelial y fibrosis.



La acción antiinflamatoria que poseen muchos flavonoides se relaciona con la inhibición de diversas enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico (ciclooxigenasa, lipooxigenasa, dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina oxidasa (NADPH-oxidasa) y xantina oxidasa), de radicales libres y reducen el estrés oxidativo. Los flavonoides, polifenoles y alfa tocoferol poseen capacidad antioxidante. In vitro, los flavonoides polihidroxilados actúan preferentemente por la vía de 5-lipooxigenasa, mientras que los menos hidroxiados inhiben fundamentalmente la vía de las ciclooxigenasas. In vivo, sin embargo, parecen comportarse como inhibidores duales. Esta diferencia de comportamiento, no exclusiva de flavonoides, se debe a la biotransformación que sufren en el organismo. ⁽¹⁰⁾

Otros mecanismos implicados en la acción antiinflamatoria y en los cuales pueden intervenir los flavonoides son: inhibición de la liberación de histamina, inhibición de la migración celular (en el proceso inflamatorio los leucocitos se dirigen por quimiotaxis hacia el foco inflamatorio, donde son activados liberando eicosanoides y otros agentes proinflamatorios), acción antirradicalaria (actuando frente a los radicales libres que se originan en la inflamación), efecto protector vascular (contribuye a disminuir la exudación). ⁽¹⁰⁾

Muchos de los flavonoides y fenoles cooperan en el efecto antiinflamatorio, pues una explicación posible sería la actividad inhibidora de la prostaglandina sintetasa, impidiendo por lo tanto la síntesis de prostaglandinas, componente responsable de la actividad inflamatoria. Al estudiar la influencia de 22 flavonoides extraídos de plantas medicinales de España e India, en el metabolismo de ácido del araquidónico, demostraron que el grupo de flavonas y flavonoles inhibieron la 5-lipooxigenasa. ⁽¹⁰⁾

La IL-1 permite la inducción de genes que codifican para la ciclooxigenasa tipo 2 (COX₂), la fosfolipasa A tipo 2 (PLAT₂) y la óxido nítrico sintetasa inducible (INOS). Otras citoquinas, como IL-2, IL-6 e IL-8, contribuyen a la aparición de manifestaciones de respuesta inflamatoria. Las consecuencias biológicas de esta inducción se traducen en una franca respuesta inflamatoria. Por otra parte, los corticoides ejercen profundos efectos sobre las reacciones inmunitarias, inhibiendo la producción de interleuquinas



IL-1 e IL-6. Explican que la interleuquina 1 (IL-1), el factor de necrosis del tumor alfa (TNF-alfa) y la interleuquina-6 (IL-6) modulan en la fase aguda de la inflamación la síntesis de proteínas del plasma, en hepatocitos humanos adultos. Solo la IL-6 estimula la síntesis de proteína C reactiva durante la inflamación. Estos datos sugieren que IL-6 tiene el papel crucial en la regulación de síntesis aguda de proteína de fase en los hepatocitos humanos. En resumen, se puede expresar que los flavonoides, al tener un comportamiento dual de inhibir la formación de prostaglandina E₂ (PGE₂) y leucotrieno B₄ (LTB₄), afectan el metabolismo del ácido araquidónico e inhiben la síntesis de interleuquina 1 (IL-1) y como consecuencia la interleuquina 6 (IL-6), lo cual a su vez afecta la síntesis de la proteína C reactiva (PCR).⁽¹¹⁾

6. Analgesia.

La acción analgésica de algunos compuestos tiene lugar a nivel periférico, mediante la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas, producidas en respuesta a una agresión o lesión tisular, e impiden, por tanto, que los eicosanoides contribuyan con su acción sensibilizadora sobre las terminaciones nerviosas nociceptivas, al aumentar la acción estimulante del dolor de otros mediadores allí liberados (histamina y bradicinina).

Las prostaglandinas son reguladores bien conocidos del crecimiento de la célula. Constituyen una familia de compuestos que se generan en muchos tejidos, se sintetizan a partir del ácido araquidónico por la acción de diferentes enzimas como las ciclooxigenasas.⁽¹²⁾

Se piensa que estímulos físicos hacen que también penetre Ca⁺² a la célula que activa a la fosfolipasa A₂ (PLA₂), la cual hidroliza el enlace éster de fosfolípidos de membrana con la liberación de ácido araquidónico, el cual es metabolizado rápidamente hasta obtener productos oxigenados, por acción de las COX, o algunas lipooxigenasas (LOX) o citocromo P450 (*cyp* 450) y producción de PGs, TXs y/o LTs.⁽¹²⁾



7. Formulación.

Los geles son formas farmacéuticas de consistencia semirrígida, formados por un sistema coloidal, en el cual el movimiento del medio de dispersión está restringido por partículas solvatadas entrelazadas o por macromoléculas de la fase dispersada. El estado semisólido es debido al aumento de viscosidad causado por entrelazamiento y por la consecuente alta fricción interna. ⁽¹³⁾

Las sustancias gelificantes absorben agua y se hinchan. La absorción de un líquido por un gel sin un aumento considerable de volumen es conocido como inhibición. La interacción entre las partículas de la fase dispersa puede ser tan fuerte que al permanecer en reposo el medio de dispersión es empujado fuera del gel en forma de gotas, generalmente no tienen aceites grasos, destinados a aplicarse sobre la membrana mucosa, no tiene poder de penetración, por eso se utilizan para ejercer acción tópica. ⁽¹³⁾

7.1 Tabla N° 2. Ventajas y desventajas de los geles.

Ventajas	Desventajas
1. Son bien toleradas.	1. Incompatibilidad con numerosos principios activos.
2. Fácilmente lavables.	2. Tendencia a la desecación.
3. Producen frescor.	4. Bajo poder de penetración (indicados para tratamientos superficiales)

7.2 Características de los geles

1. Tienen una consistencia semisólida o fluida
2. Su aspecto puede ser transparente o turbio
3. Presentan una estructura de tipo continua
4. Comportamiento pseudoplástico
5. El pH esta entre 4.5 y 8.5.



7.3 Mecanismo de formación de los geles.

Los productos gelificantes se pueden agrupar del siguiente modo:

1. Polímeros que dan lugar a un gel dependiente del pH del medio.
2. Polímeros que dan lugar a un gel por si mismos independientemente del pH del medio.

Los primeros dan lugar a las soluciones acidas que al neutralizar con las bases adecuadas, aumentan la viscosidad y disminuye la turbidez del medio. El mecanismo por el cual se forma el gel es el siguiente: a bajos valores de pH, se disocia una pequeña porción de grupos carboxilos del polímero, formando una espiral flexible. La adición de una base produce la disociación de grupos carboxílicos, ionizándose, creando repulsión electrostática entre las regiones cargadas, expandiéndose la molécula, haciendo más rígido el sistema, gelificándolo. Se pasa de una estructura espiralada a una desenrollada o extendida.

Los segundos no precisan ser neutralizados para la formación del gel, gelifican por sí mismo, forman puentes de hidrógeno entre el solvente y los grupos carboxílicos del polímero. ⁽¹³⁾



7.4 Tabla N° 3. Clasificación de los geles.

Clasificación	Sub-clasificación.	Definición.
Comportamiento al agua.	Geles hidrófilos o Hidrogeles.	Constituidos por agua, glicerina, propilenglicol u otros líquidos hidrofílicos (goma tragacanto, almidón, derivados de la celulosa etc).
	Geles hidrófobas o lipogeles.	Son vehículos oleosos oclusivos, de muy diversas consistencia (Ceras, lanolina derivados de lanolina y alcoholes grasos cetílicos y cetosteárilicos).
Numero de fases en que están constituidos	Geles monofásicas.	El medio líquido lo constituye una sola fase o líquido miscible (agua-alcohol, solución hidroalcohólica, aceites).
	Geles bifásicas	Constituidos por dos fases líquidas inmiscibles, formándose una estructura transparente con propiedades de semisólidos.
Por su viscosidad	Geles fluidas	Son líquidas.
	Geles semisólidas	Son los más habituales
	Geles sólidos.	Propiedades de sólidos.
Por su estructura	Elásticas	Un gel típico elástico es el de gelatina, se obtiene por enfriamiento del sol liofílico que resulta cuando se calienta esta sustancia con agua. agar, almidón, pectina, siempre que no sean demasiado diluidos
	No elásticas	El gel no elástico más conocido es el del ácido silícico o gel de sílice.
En función a la naturaleza interna	Orgánicos	
	Inorgánicos	Magma de bentonita
	Naturales	gelatina, goma arábiga
	Sintéticos	Carboximetilcelulosa sódica; hidroxipropil celulosa.



7.5 Estudios físico químicos y microbiológicos que se realizan a los geles.

El Reglamento Técnico Centroamericano para productos naturales establece las siguientes pruebas para garantizar la seguridad de los preparados de uso tópico (Geles).

(14)

1. Características organolépticas.
2. pH
3. Identificación general o específica
4. Recuento microbiano
5. Llenado mínimo

7.6 Excipientes.

Son sustancias auxiliares que ayudan a que el principio activo se formule de manera estable, eficaz y sobre todo, seguras para el paciente. ⁽¹⁵⁾

Para la selección adecuada de los mismos deben reunir las siguientes características generales:

1. pH: Debe ser neutro o débilmente ácido, lo más parecido al de la piel.
2. Estabilidad física y química, así como compatibilidad con los principios activos que se incorporan.
3. Propiedades reológicas: Deben proporcionar al preparado una adecuada extensibilidad y adaptabilidad a la superficie y cavidades cutáneas. Para ello es recomendable que posean flujos de tipo plástico-tixotrópico, caracterizados por un aumento de la fluidez durante la aplicación, seguida de una recuperación de la textura inicial después de extendido el medicamento, lo que permite mantenerlo localizado y adherido a la zona tratada
4. La posibilidad de ser eliminados de la zona tratada mediante simple lavado.
5. No deben manchar, en la medida de lo posible, ni la piel ni los tejidos.
6. No deben presentar efectos de irritación primaria ni de hipersensibilización.



7.7 Presentaciones.

Los conocimientos y las técnicas de fabricación de medicamentos, preparados a partir de sustancias activas obtenidas por vía sintética, son aplicables en un todo a los productos naturales puros. Los productos fitoterapeúticos debido a su naturaleza, merecen consideraciones y cuidados adicionales. ^(16,6)

En la formulación de productos fitoterapeúticos deben ser consideradas no solamente la solubilidad y estabilidad de principios activos, sino también las características de los componentes secundarios del extracto como por ejemplo la higroscopicidad en las formas farmacéuticas sólidas y la baja solubilidad en las formas farmacéuticas líquidas. ⁽⁶⁾

Prácticamente todas las formas farmacéuticas pueden ser preparadas a partir de extractos:

1. Formulaciones líquidas: gotas, jarabes, soluciones o suspensiones para las capsulas blandas de gelatina.
2. Formulaciones sólidas: comprimidos, comprimidos recubiertos, capsulas de gelatina y gránulos.
3. Preparaciones semisólidas para uso externo: geles, cremas, pomadas, lociones, etc.

En la selección de la forma farmacéutica de un producto Fito- terapéutico, los aspectos principales que deben tener en cuenta son los siguientes:

1. La forma debe ser aceptable para el paciente.
2. La forma debe ser química y físicamente estable.
3. El producto debe ser terapéuticamente eficaz.



Tabla N° 4. Preparados semisólidos:

Preparados Semisólidos		
Forma Farmacéutica	Definición	Características
Cremas.	Son emulsiones semisólidas para la aplicación externa constituidas por dos fases: lipófila e hidrófila.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Consistencia blanda y flujo pseudoplástico. 2. Efectos emoliente refrescante y humectante. 3. La viscosidad y el flujo varía de acuerdo al grado en que los sistemas son homogenizados.
Lociones.	Son preparaciones acuosas que se aplican externamente sin fricción.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Soluciones verdaderas. 2. Coloides. 3. Emulsiones o suspensiones.
Ungüentos o pomadas.	Son preparaciones constituidas de una mezcla hecha con una base de grasas o aceites.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Deben de ser estables durante todo el tiempo que dura el tratamiento, suaves e inocua.
Pastas.	Preparaciones semisólidas de consistencia blanda compuestas por un elevado porcentaje (40-50 %) de polvos absorbentes los cuales son dispersados en uno o varios componentes de naturaleza líquida o semisólida.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Poco oclusivas. 2. Rápido secado. 3. Fácil eliminación.



4. Hipótesis.

El extracto hidroalcoholico de hojas de *Capraria biflora* posee actividad analgésica y antiinflamatoria similar a diclofenac sódico.



5. Materiales y métodos.

Tipo de estudio:

Cuasi experimental.

Área de estudio.

Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Farmacia Industrial, escuela de medicina veterinaria bioterio de la escuela de veterinaria UNAN-León.

Universo: Especies fitomedicinales con propiedad antiinflamatoria y analgésica existentes en el país: manzanilla (*Matricaria chamomilla*), perulera (*Capraria biflora L*), jabonera (*Saponaria officinalis L*), limonaria (*Murraya paniculata*).

Muestra: hojas de la planta *Capraria biflora*.

Unidad de análisis:

Ratones variedad BALB/C tras la administración de extractos a diferentes dosis.

Variables de estudio:

1. Dosis efectiva.
2. Actividad analgésica
3. Actividad antiinflamatoria.

Criterios de inclusión:

1. Disponibilidad de la especie para efectuar el estudio (muestra vegetal en cantidad suficiente para la preparación de los extractos a ensayar).
2. Validar el uso tradicional de la especie por la población como analgésico y antiinflamatorio.
3. Escasez de estudios científicos que faciliten la explotación de la especie como analgésico y antiinflamatorio en la industria farmacéutica.

Criterios de exclusión:

1. Limitada disponibilidad de la especie para efectuar el estudio (cantidad o existencia).
2. Existencia de numerosos estudios que validen su uso.



Tabla N° 5. Operacionalización de variables.

Variable	Definición	indicador	Escala
Dosis efectiva	Cantidad mínima de sustancia activa ingerida capaz de producir una respuesta.	Concentración efectiva	Mg de extracto/Kg de peso. (mg/Kg).
Efecto Analgésico.	Pérdida de sensibilidad para el dolor.	Tiempo de latencia.	Segundos.
Actividad antiinflamatoria.	Es la capacidad de un fármaco para evitar o disminuir la respuesta inflamatoria.	Aumento de volumen de pata.	% Inflamación = $(V_{t_x} - V_{t_0}) * 100 / V_{t_0}$.

Plan de análisis de resultados:

Se utilizó el programa Microsoft Word versión 2010 para el levantado de texto y el programa Microsoft Excel versión 2010 para tabular y graficar los resultados obtenidos de la investigación.

Condiciones de ensayo:

Recursos Materiales:

1. Balanza para animales.
2. Cocina CORNING HOT PLATE PC-100 con una adaptación de una caja de cartón para la evaluación de la actividad analgésica.
3. Jeringas de insulina.
4. Fármaco estándar de referencia Diclofenac Sódico.
5. Inductor de la inflamación (formalina 30 %).
6. Vernier
7. Ratonés BALB/C de ambos sexos de 30 g de peso.
8. Material y equipo de laboratorio.



5.1 Procesamiento del material vegetal.

5.1.1 Recolección (ver anexo N^o 3).

1. La recolección del material vegetal se realizó en la etapa de floración de la planta durante el periodo seco en horas de la tarde en áreas cercanas a la comunidad de Cayanlipe del municipio de Villa Nueva departamento de Chinandega.
2. Se procedió a la selección de las hojas como material de interés eliminando hojas con fracturas o marcas y hongos.

5.1.2 Lavado.

1. Una vez obtenidas las partes aéreas, se lavaron con abundante agua potable.
2. Se realizó la comprobación botánica de la especie en el Herbario Miguel Ramírez Gollena de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua con sede en León.

5.1.3 Secado (ver anexo N^o 4).

1. Las partes aéreas se trasladaron en bolsas plásticas hasta el Herbario de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua con sede en León, y se procedió a la etapa de secado.
2. El secado se realizó mediante un horno artesanal de 2 metros de alto y 1.5 metros de ancho, a una temperatura de 60^o C.
3. Se colocó la muestra en capas delgadas sobre cartones los cuales se ubicaron sobre las rejillas metálicas del horno.
4. El secado se llevó a cabo a las 48 horas.

5.1.4 Fragmentación (ver anexo N^o 5).

Luego de la operación de secado se procedió a la pulverización de la materia prima utilizando un molino de cuchillas, Arthur H, Thomas Co, Philla P.A USA, el cual consta de un tamiz de diámetro de 1mm.



1. Se procedió a la limpieza del molino, para evitar contaminación de la muestra por residuos que pudieran estar presentes en el mismo.
2. Se adicionó la muestra poco a poco hasta la completa trituración.
3. Se procedió a recolectar la materia pulverizada utilizando bolsas plásticas.
4. Se procedió a la limpieza del molino.

5.1.5 Extracción (ver anexo N° 6).

Con el objetivo de definir la relación droga solvente más adecuada para la obtención de metabolitos secundarios presente en la especie, mediante un extracto hidroalcohólico, se realizó un estudio comparativo preliminar a diferentes concentraciones 1:5 al 35%, 50 %, 70% y 1:10 al 35%, 50%, 70%. Para lo cual se procedió a:

1. Preparación de las soluciones hidroalcohólicas al 35, 50,70% a partir de alcohol absoluto del 95%.
2. Pesado de la materia prima previamente pulverizada en cantidad suficiente para la relación previamente establecida.
3. Luego se utilizó el método de maceración simple por 15 días a temperatura ambiente garantizando las condiciones adecuadas para la extracción de los metabolitos de interés.

5.1.6 Filtración:

Una vez transcurrido el tiempo de maceración se procedió a la filtración de los extractos para la clarificación de los mismos:

1. El contenido del macerado se filtró utilizando un trozo de manta limpia.
2. Luego se procedió a guardar el extracto filtrado en envases adecuados protegidos de la luz a temperatura ambiente.



5.1.7 Sólidos totales (ver anexo N° 8):

Se tomaron como parámetros de análisis la determinación de sólidos totales.

1. Se procedió a rotular cada una de las capsulas de porcelana con las concentraciones de los extractos.
2. Luego se pesaron las capsulas utilizando una balanza analítica SARTORIUS, estas debían estar limpias y secas.
3. Se adicionó 1 ml de cada uno de los extractos a la capsula rotulada con la concentración correspondiente y se pesaron nuevamente.
4. Se continuó con la evaporación del disolvente, para lo cual se hizo uso de una cocina CORNING HOT PLATE PC-100, hasta completo secado.
5. Una vez evaporado el solvente se transfirieron las capsulas a un desecador conteniendo silica gel, para evitar la adsorción de humedad del ambiente.
6. Se pesaron nuevamente las capsulas de porcelana y se procedió a realizar los cálculos correspondientes utilizando el programa Microsoft Excel versión 2010 para determinar la mejor relación droga solvente basándose en el porcentaje más alto obtenido según su peso.
7. La relación droga solvente a la cual se obtuvo el mayor rendimiento fue 1:5 al 35% con un 1.89 % de sólidos totales recuperados.

5.1.8 Concentración de los extractos.

Una vez obtenido el extracto, se procedió a la concentración del mismo.

1. Se calentó el extracto utilizando una cocina CORNING HOT PLATE PC-100, hasta que este paso de ser un extracto fluido a un extracto viscoso.
2. Se enfrió el extracto a temperatura ambiente.
3. Se envasó el extracto en un recipiente protegido de la luz y a una temperatura entre 15 y 20⁰ C.



5.2 Evaluación in vivo de la actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto de *Capraria biflora* en ratones de variedad BALB/C.

Una vez concentrado el extracto se procedió a evaluar la actividad analgésica y antiinflamatoria para ello se utilizaron las siguientes pruebas:

5.2.1 Actividad analgésica (ver anexo N^o 8):

Prueba de plato caliente (Hot Plate). El ensayo se desarrolló según la técnica descrita por Woolfe y MacDonald.

Para evaluar el posible efecto analgésico del extracto hidroalcoholico de *Capraria biflora* se distribuyó al azar 30 ratones BALB/C en 6 grupos los que se trataron por vía peroral con:

- 1.^{er} grupo control agua destilada 0.25 mL mg/kg
- 2.^{do} grupo control farmacológico: 1.06 mg (0.25 mL) de diclofenac sódico (DL₅₀.53mg/kg).
- 3.^{er} grupo:extracto de *Capraria biflora* 100 mg/kg
- 4.^{to} grupo: extracto de *Capraria biflora* (200)mg/kg
- 5.^{to} grupo: extracto de *Capraria biflora* (400)mg/kg
- 6.^{to} grupo: extracto de *Capraria biflora* (600)mg/kg

Pasada 1 hora, los animales fueron colocados en un plato caliente (Isotemp ®) a una temperatura de 55±1 °C para determinar la latencia de la respuesta nociceptiva.

5.2.2 Actividad antiinflamatoria (ver anexo N^o 9):

Prueba de edema de pata inducido por formalina 0.1125 mg (0.075mL).(DL₅₀ 100mg/kg)

Para la evaluación del efecto antiinflamatorio se utilizaron 30 ratones BALB/C de ambos sexos, se distribuyó aleatoriamente cada grupo conformado por 5 ratones de 30 gramos de peso.

- 1.^{er} grupo control agua destilada 0.25 mL
- 2.^{do} grupo control farmacológico: 1.06 mg (0.25 mL) de diclofenac sódico (DL₅₀.53mg/kg).



3. 3^{er} grupo: extracto de *Capraria biflora* (100)mg/kg
4. 4^{to} grupo: extracto de *Capraria biflora* (200)mg/kg
5. 5^{to} grupo: extracto de *Capraria biflora* (400)mg/kg
6. 6^{to} grupo: extracto de *Capraria biflora* (600)mg/kg

Transcurrida una hora posterior a la administración de las muestras peroral, se procedió a inyectar los animales en la región subplantar por vía subcutánea en la pata trcera derecha 0.075ml (a razón de 3 unidades) de formalina, inmediatamente después de la inyección se mide el volumen de la pata derecha utilizando un Verniert y repitiendo la medida a cada hora hasta completar 6 horas.

$$\% \text{ Inflamación} = (V_{t_x} - V_{t_0}) * 100/V_{t_0}$$

Donde V_{t_x} es el volumen de la pata inflamada a un tiempo x

V_{t_0} es el volumen normal de la pata.

5.3 Preparación del estándar de referencia.

5.3.1 Solución de diclofenac sódico.

1. En una balanza analítica SARTORIUS se pesaron diez tabletas de diclofenac sódico de 50 mg.
2. Se calculó el peso promedio.
3. Se trituraron las tabletas utilizando un pilón.
4. Se pesó una cantidad de polvo equivalente a 200 mg de diclofenac sódico.
5. Se trasvaso cuantitativamente a un balón aforado de 50 ml.
6. Se solubilizo y aforó con agua destilada.
7. De esta solución se tomó 1 mg de diclofenac sódico (0.25 mL) y se administró por vía peroral a los ratones de variedad BALB/C.



6. Preparación del gel.

Después de haber realizado varios test para confirmar que el extracto de hojas de *Capraria biflora* posee efecto analgésico y antiinflamatorio se procedió a la formulación de una forma farmacéutica (gel) que posea estos efectos.

6.1 Fórmula cuali-cuantitativa para un lote de 100 gramos.

La fórmula cualicuantitativa utilizada se obtuvo mediante la realización de varios ensayos obteniéndose la siguiente formulación, la cual nos brinda características organolépticas y parámetros físico-químicos de conformidad a lo establecido en el RTCA 11.03.39:06

Extracto de <i>Capraria biflora</i>	9 ml equivalente a 9.34 g
Carbopol 940 NF	2 g
Glicerina.....	15 g
Propilenglicol.....	20 g
Metilparabeno.....	0.08 g
Propilparabeno.....	0.12 g
Trietanolamina.....	0.12 g
Agua c.s.p.....	100 g

Técnica de preparación

1. Humectar el carbopol en 9 mL del extracto y 50 mL de agua destilada.
2. Disolver los parabenos en propilenglicol.
3. Mezclar glicerina con el paso 2 y adicionar al paso 1.
4. Adicionar agua destilada hasta completar 100 g y agitar hasta completa homogenización.
5. Adicionar trietanolamina y homogenizar.
6. Medir pH y viscosidad.
7. Envasar en pomos de 30g.



8. Resultados y análisis de resultados.

7.1 Efecto analgésico.

La actividad analgésica de una sustancia puede determinarse mediante varias pruebas nociceptivas que se basan en la aplicación de estímulos dolorosos y la valoración de cambios típicos observables en la conducta del animal, dichos estímulos pueden ser de tipo mecánico, térmico, químico en dependencia del método experimental empleado.⁽²⁾

Para determinar el efecto analgésico del extracto de *Capraria biflora* se utilizó ratones de variedad BALB/C y se determinó mediante el test de plato caliente (hot plate).

Los resultados para el test de plato caliente se muestran en la Tabla N° 6.

Tabla N° 6. Determinación de la actividad analgésica del extracto de *Capraria biflora*.

Grupos de estudio.	Dosis.	Tiempo de latencia en segundos.					\bar{X}	CV
		t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅		
Control Negativo (Agua).	0.25 mL	13	15	12	13.6	15.6	13.52	8.3
Control Positivo (Diclofenac Sódico)	1,5 mg/kg	33	34	32	35	37	34.2	5.6
Extracto hidroalcoholico de <i>Capraria biflora</i>.	600 mg/Kg a razón de (0.225mL)	28	40	39	41	38	39.2	3.3
	400 mg/kg a razón de (0.15mL)	30	28	32	29	31	30	5.3
	200 mg/k a razón de (0.15mL)	30	26	27	25	28	27.4	6.1
	100 mg/kg a razón de (0.15mL)	26	22	26	24	20	22.6	7.4

Donde t es tiempo en segundos.

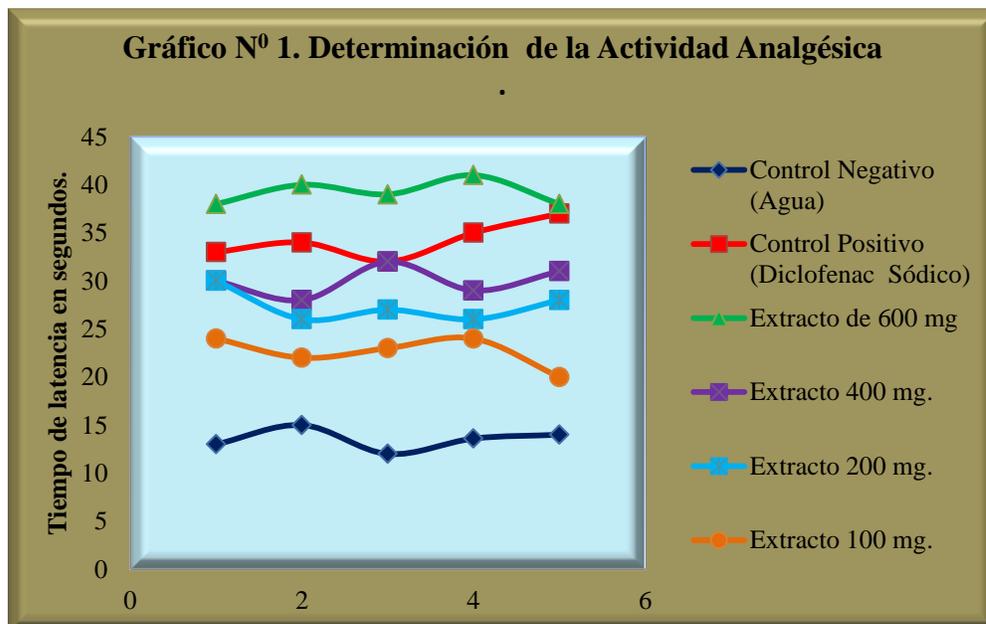


Se pudo observar que en las condiciones evaluadas, el menor tiempo de latencia (tiempo en presentar una repuesta ante un estímulo doloroso) se presentó en el grupo control negativo.

En todos los casos existieron diferencias entre el control negativo, los tratados con el estándar de referencia (diclofenac sódico), y con el extracto de *Capraria biflora*.

Los resultados evidencian que el extracto a las dosis evaluadas posee propiedades analgésicas dosis dependientes, lo cual sugiere su uso en el tratamiento de dolores leves a moderados, superando el efecto analgésico a dosis de 600 mg/kg en comparación al estándar de referencia, comprobando así que el extracto de *Capraria biflora* muestra un efecto inhibitor de la síntesis de prostaglandinas y mediadores de la respuesta inflamatoria y por tanto un efecto analgésico indirecto ⁽²⁾.

Al calcular la desviación estándar relativa (cv) se evidencia la homogeneidad de los datos obtenidos para el grupo tratado con extracto de *Capraria biflora* a dosis de 400 mg/kg siendo estos similares al valor obtenido en el fármaco de referencia.





A las dosis de 200 y 100 mg/Kg el extracto de *Capraria biflora* evidencia la inhibición de la respuesta dolorosa, pero en menor grado en la escala del dolor, como se observa en el grafico N° 1, superando el tiempo de latencia del control negativo, teniendo en consideración estos aspectos se puede afirmar que el extracto *Capraria biflora* posee actividad analgésica.



7.2 Efecto antiinflamatorio.

El efecto antiinflamatorio del extracto se evaluó a través del edema de pata inducido por formalina al 30%.

Los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antiinflamatoria al administrar el extracto hidroalcoholico de *Capraria biflora* se muestran en la tabla N° 7.

Tabla N° 7. Determinación de la actividad antiinflamatoria del extracto de *Capraria biflora*.

Grupos de estudio	Dosis	% porcentaje de inflamación tras seis horas de observación.					
		t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₆
Control negativo(agua)	0.25 mL	41	47	48	48	48	48
Control positivo(diclofenac sódico)	1.5mg/kg	42	38	42	36	31	28
Extracto hidroalcoholico de <i>Capraria biflora</i> .	600 mg a razón de (0.225mL)	28	29	24	16	12	13
	400 mg a razón de (0.15mL)	41	35	27	29	21	16
	200 mg a razón de (0.15mL)	39	36	41	34	26	22
	100 mg a razón de (0.15mL)	37	41	41	46	39	39

Donde t es tiempo en horas.

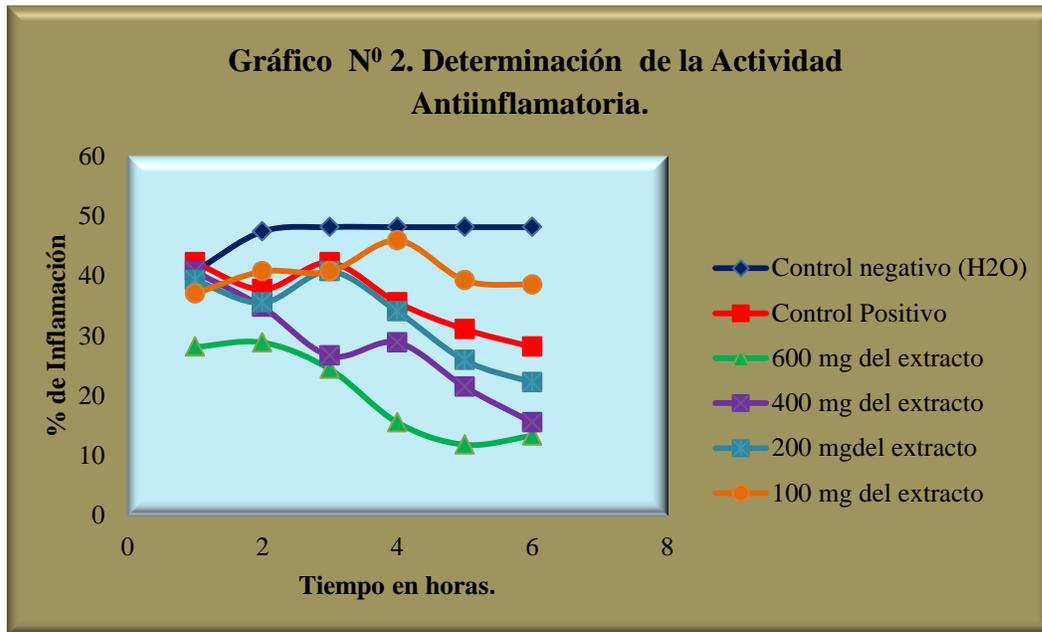
Los mayores porcentajes de inflamación en la experimentación, se observaron en el grupo control negativo al cual se le administró agua destilada.

El menor porcentaje de inflamación se presenta en los grupos tratados con extracto de *Capraria biflora* a dosis de 600 y 400 mg/kg de peso superando al estándar de referencia.



En el grupo tratado con diclofenac sódico, estándar de referencia para este ensayo, se observó una disminución del porcentaje de inflamación en todos los tiempos evaluados, siendo similar a los porcentajes que manifestó el grupo tratado con extracto hidroalcoholico a dosis de 200 mg/kg.

Para el grupo tratado con el extracto hidroalcoholico de *Capraria biflora* a dosis de 100 mg/Kg de peso, se observó que los valores de inflamación logrados en todos los tiempos, resultaron inferiores a los desarrollados en el grupo control negativo, obteniéndose a esta dosis una baja actividad antiinflamatoria.



El gráfico N° 2 muestra como disminuye el porcentaje de inflamación en el transcurso del tiempo, especialmente en los grupos tratados con diclofenac sódico y extracto de *Capraria biflora*, no así en el grupo control negativo el cual permaneció constante durante la realización del ensayo.



7.3 Cuantificación de flavonoides totales en extracto de *Capraria biflora*.

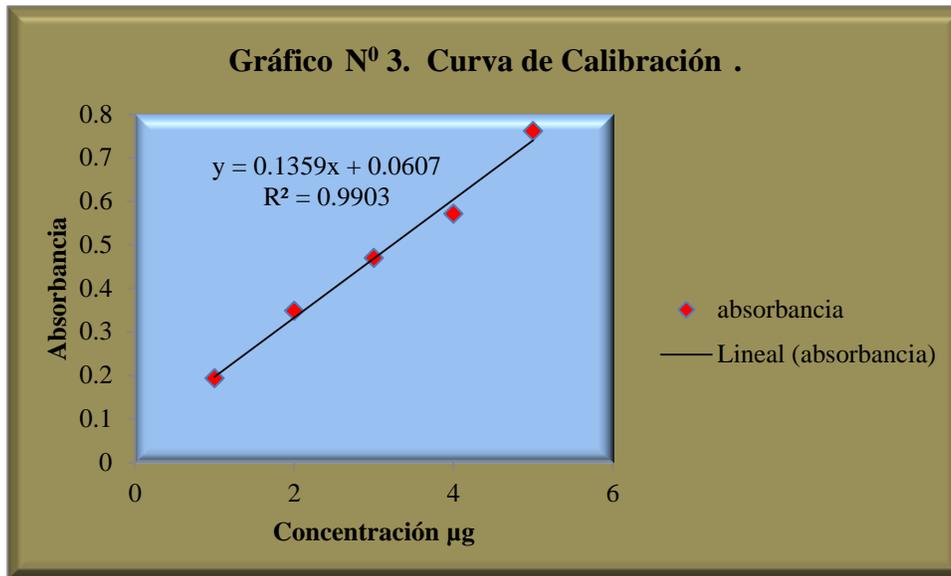
En los experimentos se determinó que a dosis de 600 mg/kg el extracto de *Capraria biflora* posee efecto analgésico y antiinflamatorio superior al estándar de referencia, los componentes responsables de este efecto son flavonoides de tipo flavonas (Vicet Muro, 2009), Para determinar la cantidad de flavonoides totales responsables de dicha actividad se procedió a cuantificar estos metabolitos por espectrofotometría UV-Visible utilizando Rutina como estándar de referencia.

Tabla N° 8. Cuantificación de flavonoides totales presente en extracto de *Capraria biflora* por espectrofotometría UV-Visible.

Compuesto	Concentración µg/mL	Absorbancia (triplicado)
Estándar de referencia (Rutina)	1	0.19306
	2	0.34821
	3	0.46893
	4	0.57105
	5	0.76124
Extracto de <i>Capraria biflora</i>	8.57760	1.31370

La tabla N° 8 muestra los valores de absorbancias obtenidos en el espectrofotómetro en función de la concentración, se montó una curva de calibración utilizando rutina a diferentes concentraciones (1, 2, 3, 4,5 µg/ml).

Para la cuantificación de la muestra se tomó una alícuota de 0.5 ml y se llevó a un balón de 10 ml, de esta solución se tomó 1 ml se trasvaso a un tubo de ensayo y se agregaron 2 ml de reactivo de follin y 2 ml de carbonato, luego se realizó la lectura de la muestra por triplicado para su cuantificación obteniéndose 8.57760 µg/ml equivalentes a 857.76 µg/ml de flavonoides en el extracto puro.



Como se aprecia en el gráfico N° 3 la pendiente y el intercepto el equipo los muestra por defecto, se puede ver que están ajustados, el R^2 es de 0.9903 se aproxima lo suficiente a 1 de manera que nos da confiabilidad y seguridad al momento de aplicar el método de análisis.

Para que una curva de calibración nos dé resultados confiables el r^2 debe ser lo más cercano a la unidad 0.9999, el gráfico nos muestra un r^2 de 0.9903 debido a que el punto N° 4 se encuentra fuera de la recta, sin embargo este resultado es aceptable según la ley de Lamber Beer.



8.4 Actividad antiinflamatoria del gel conteniendo extracto de *Capraria biflora*.

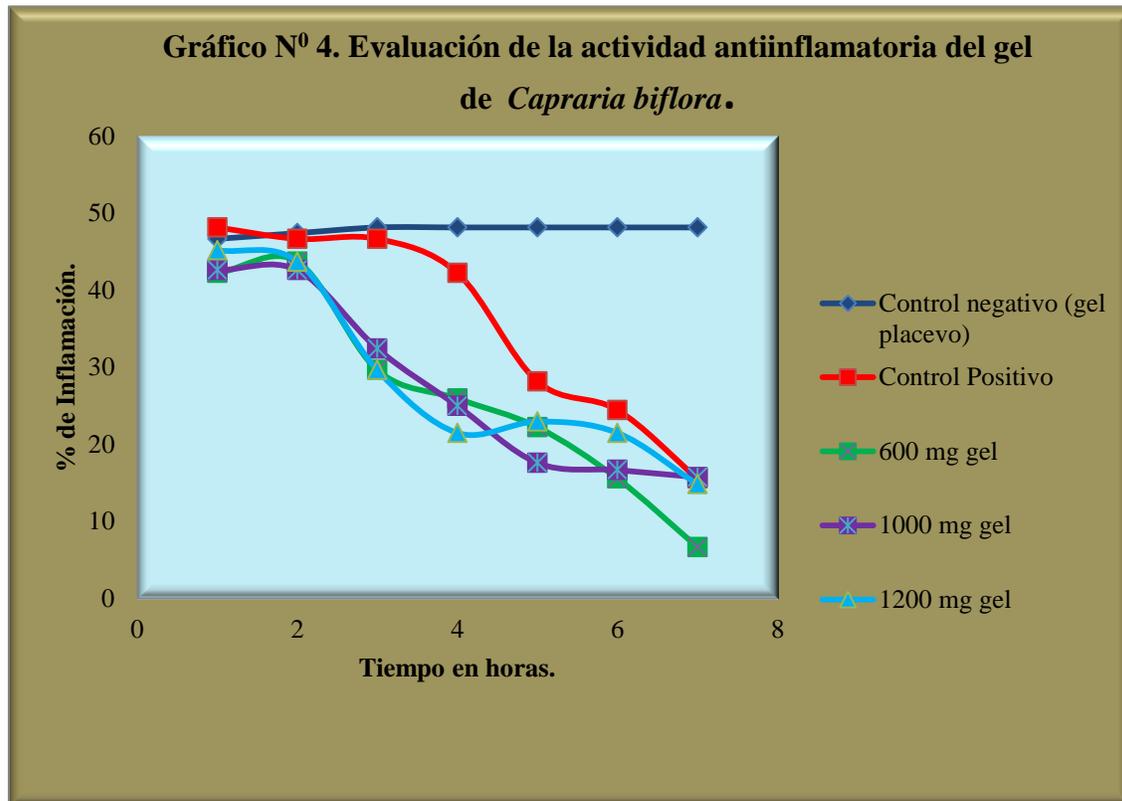
Una vez determinada la concentración de flavonoides totales presentes en el extracto y conociendo la cantidad necesaria para ejercer dicha actividad se procedió a formular el gel con propiedades analgésica y antiinflamatoria de la especie *Capraria biflora*.

Para determinar la viabilidad como analgésico y antiinflamatorio del gel de extracto de *Capraria biflora*, se procedió a realizar un ensayo comparativo en el cual se utilizó gel de diclofenac sódico al 1% (producto de gran demanda por la población), como estándar de referencia y gel conteniendo extracto de *Capraria biflora* a concentraciones de 600mg(77.14 µg de flavonoides totales/g), 1000mg (128.5 µg de flavonoides totales/g) y 1200 mg (154.28 µg de flavonoides totales/g), los resultados obtenidos se muestran en la Tabla N° 9.

Tabla N° 9. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del gel de *Capraria Biflora*.

Grupos de estudio.	% de inflamación tras 7 horas de observación.						
	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₆	t ₇
Control negativo Gel placebo	47	47	48	48	48	48	48
Control positivo. Diclofenac sódico	48	47	47	42	28	24	16
Gel de <i>Capraria</i> 600 mg	42	44	30	26	22	16	7
Gel de <i>Capraria</i> 1000 mg	43	43	32	25	18	17	16
Gel de <i>Capraria</i> 1200 mg	45	44	30	21	23	21	15

La tabla muestra los porcentajes de inflamación obtenidos al utilizar la vía tópica los cuales al ser comparados con los resultados obtenidos empleando la vía peroral, el efecto antiinflamatorio es prolongado e intenso en la vía tópica en relación a la vía peroral. Este efecto se debe a que por vía tópica el extracto no sufre metabolismo por efecto del primer paso hepático, por el contrario en la vía peroral se produce este metabolismo por la citocromo p 450 y el complejo enzimático encargado de este metabolismo disminuyendo de esta manera la concentración de los componentes activos responsables de dicho efecto.



El gráfico N° 4 muestra que los mayores porcentajes de inflamación durante el ensayo de experimentación, se observaron en el grupo control negativo al cual se le aplicó gel placebo, en el grupo tratado con diclofenac sódico, estándar de referencia para este ensayo, se observó una disminución del porcentaje de inflamación en todos los tiempos evaluados.

Con respecto a los grupos tratados con gel de *Capraria biflora*, se observó una disminución importante en el porcentaje de inflamación tras la aplicación tópica del gel en todas las dosis ensayadas, superando al estándar de referencia.

Los resultados obtenidos con el gel son similares entre sí, a pesar de que el gel está preparado a concentraciones diferentes (600, 1000 y 1200 mg/g), esto se debe a una posible saturación en los receptores para este tipo de metabolitos lo cual explica que aunque aumentemos la concentración no se potencia su efecto.



Tabla N^o 10. Especificaciones de producto terminado.

Perugel, gel analgésica y antiinflamatoria(A base de extracto de capraria biflora)		Laboratorio Zukia S.A
		Lote N^o:1990ds
		Fabr:03/14 ven:03/16
Características organolépticas.		
Parámetro.	Especificación	Resultados
Aspecto	Gel transparente libre de partículas y grumos visibles.	Conforme con la especificación
Color	Café claro.	Conforme con la especificación
Olor	Característico.	Conforme con la especificación
pH	4.5 - 8.5.	5.1
Viscosidad	30-60	50
Llenado mínimo	Pomos conteniendo 30 g ± 3%.	30.2



9. Conclusiones.

En la determinación de la actividad analgésica mediante el test de plato caliente y en la evaluación de la actividad antiinflamatoria mediante el método edema de pata inducido por formalina se comprobó que el extracto hidroalcohólico de la especie *Capraria biflora* posee actividad analgésica y antiinflamatoria dosis dependiente, a medida que se aumenta la concentración, aumenta su potencia, a dosis de 600 mg/kg (77.14 µg de flavonoides totales) administrado por vía peroral superó el efecto producido por el estándar de referencia (diclofenac sódico).

La presencia de metabolitos en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Capraria biflora*, tales como flavonoides de tipo flavonas (naringenina, luteolina y apigenina) y otros compuestos fenólicos, justifica el efecto antiinflamatorio del extracto al poseer probada efectividad como compuestos antiinflamatorios, los cuales ejercen dicho efecto a través de múltiples mecanismos, uno de ellos es inhibir la generación de eicosanoides derivados de las vías enzimáticas ciclooxigenasas y 5-lipooxigenasas, así como también reprimen la producción de óxido nítrico y la secreción del factor de necrosis tumoral .

Después de realizar los ensayos para la determinación del efecto analgésico y antiinflamatorio se procedió a la formulación de un gel que posee estas propiedades, el cual al realizar los procedimientos respectivos para determinar su efecto se demostró que a la concentración de 600 mg/g de gel (77.14 µg de flavonoides totales), proporciona mayor efecto que el estándar de referencia diclofenac sódico en gel.



10. Recomendaciones.

- **A las futuras generaciones.**

1. Realizar estudios de identificación de metabolitos secundarios presentes en la especie *Capraria biflora*, separarlos y determinar cuáles son los responsables de la actividad analgésica y antiinflamatoria.
2. Realizar estudios de estabilidad al producto obtenido, para garantizar la viabilidad de su uso.

- **A la facultad de ciencias químicas.**

3. Adquirir equipos especializados y materiales (vernier electrónico) que proporcione datos de alta precisión y mayor confiabilidad.
4. Capacitar a los estudiantes en el uso y manejo de animales de experimentación así como la correcta manipulación de los mismos.



11. Referencias bibliográficas.

1. Matos, F. L. (2006). Farmacias vivas. Editorial UFC, Fortaleza CE. Pág. 210.
2. Vicet Muro L.(2009).Contribución a la farmacología antiinflamatoria de la especie *Capraria biflora L.* En Cuba. Editorial Universitaria Cubana. Recuperado de: http://tesis.repo.sld.cu/90/1/liliana_Vicet.pdf.
3. Gutiérrez Herrera R (2010). Efecto de la tintura de *Capraria biflora* y *Guatteria gaumeri* en la disolución de litios renales cálcicos in vitro. Recuperado de: <http://148.206.53.231/UAMI15426.pdf>.
4. Toval Herrera N, Rueda Pereira R.(2009). Malezas comunes de León, Nicaragua primera edición pag 105.
5. Lopez Sacerio A (2006). Cuantificación de flavonoides totales presentes en las hojas de *Capraria biflora l.* Recuperado de: http://revista.ibp.co.cu/component/docman/doc_download/204-bv0397-06-64241-254.html
6. Shaparin N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos Fito terapéuticos, primera edición. CYTED (Organización). Subprograma de química fina farmacéutica, convenio Andrés Bello.
7. Falconi de La Fuente E.(2010). Manual para el manejo de animales con fines de experimentación y enseñanza. Recuperado de: http://www.archivos.ujat.mx/dacbiol/docencia/lineamientos/manejo_animales.pdf.
8. Boada Saña M. La experimentación animal. Recuperado de: http://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/80084/la_experimentacion_animal.pdf.
9. Anatomía y fisiología de la piel. (2010). Recuperado de: <http://www.cuidadosdelasmanosylospies.mye.name/apuntes/2010/01/10/anatomia-y-fisiologia-de-la-piel-y-anexos-estructura-y-funciones>.



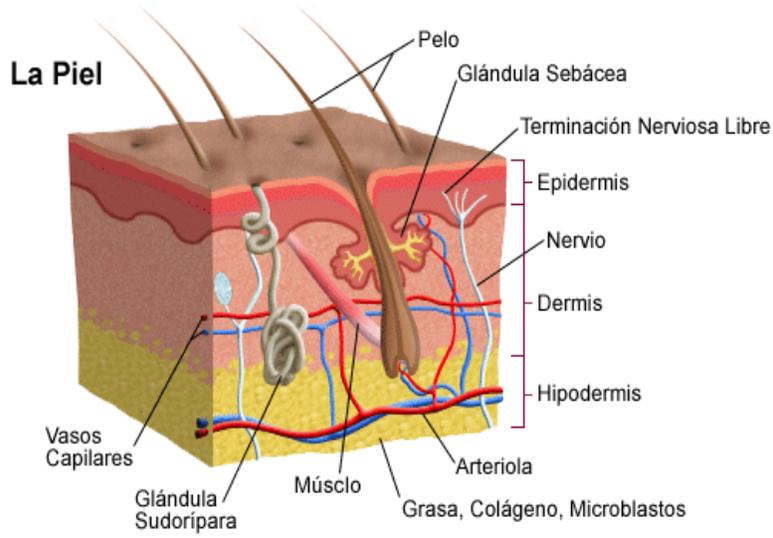
10. Enciso E, Arroyo J (2011) .Antiinflammatory and antioxidant effects of *Jungia rugosa* Less (matico de puna) leaves' flavonoids in rats. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S102555832011000400002&script=sci_arttext.
11. Gómez Estrada H.(2011). Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85618379003.pdf>
12. Barzaga Fernández P.(2005). Efecto analgésico del extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962005000100002&script=sci_arttext.
13. Cruz Ati P. (2009). Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Matico (*Aristiguetia glutinosa*), Marco (*Ambrosia arborecens*) para neo-fármacos. Recuperado de: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/218/1/56T00192.pdf>.
14. Reglamento Técnico Centroamericano para productos naturales. Recuperado de: http://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/menu-principal-proyectos-y-propuestas-ms/doc_download/18-anexo-5-productos-naturales-para-uso-humanoverificacion-de-la-calidad.
15. Carbopol hydrogels for topical administration: treatment of wounds by bahador poorahmary kermany (2010) recuperado de: <http://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/2755/thesis.pdf?sequence=2>.
16. Zavala Frías Sylvia. (2012) guía a la redacción en el estilo APA 6^{ta} Edición. Recuperado de: <http://www.suagm.edu/umet/biblioteca/pdf/GuiaRevMarzo2012APA6taEd.pdf>
17. Piura López J (2006). Metodología de la investigación científica .pag 109. editorial Pavsá.



12. Anexos

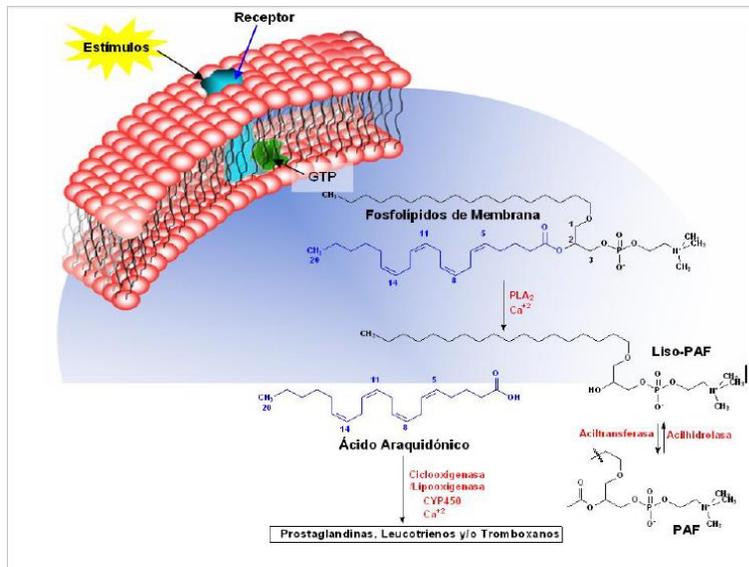
Anexo N° 1.

Anatomía de la piel.



Anexo N° 2.

Mecanismo de señalización de la biosíntesis de prostaglandinas.





Anexo N° 3.

Recolección del material vegetal.





Anexo N° 4.

Secado del material vegetal.





Anexo N° 5.

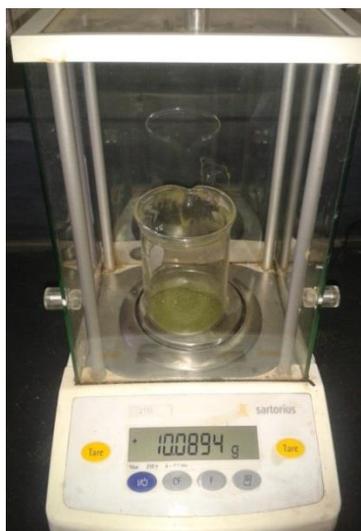
Fragmentación del material vegetal.





Anexo N° 6.

Preparación de los extractos.





Anexo N° 7

Determinación de sólidos totales.





Anexo N° 8

Determinación de la actividad analgésica.





Anexo N° 9

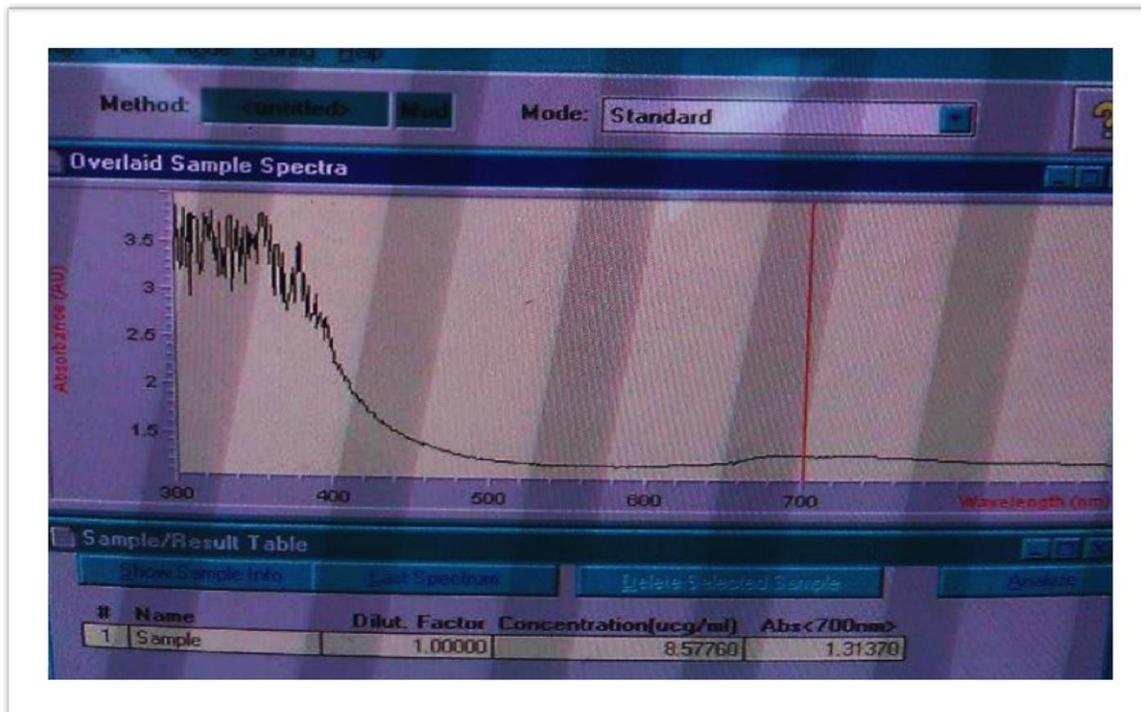
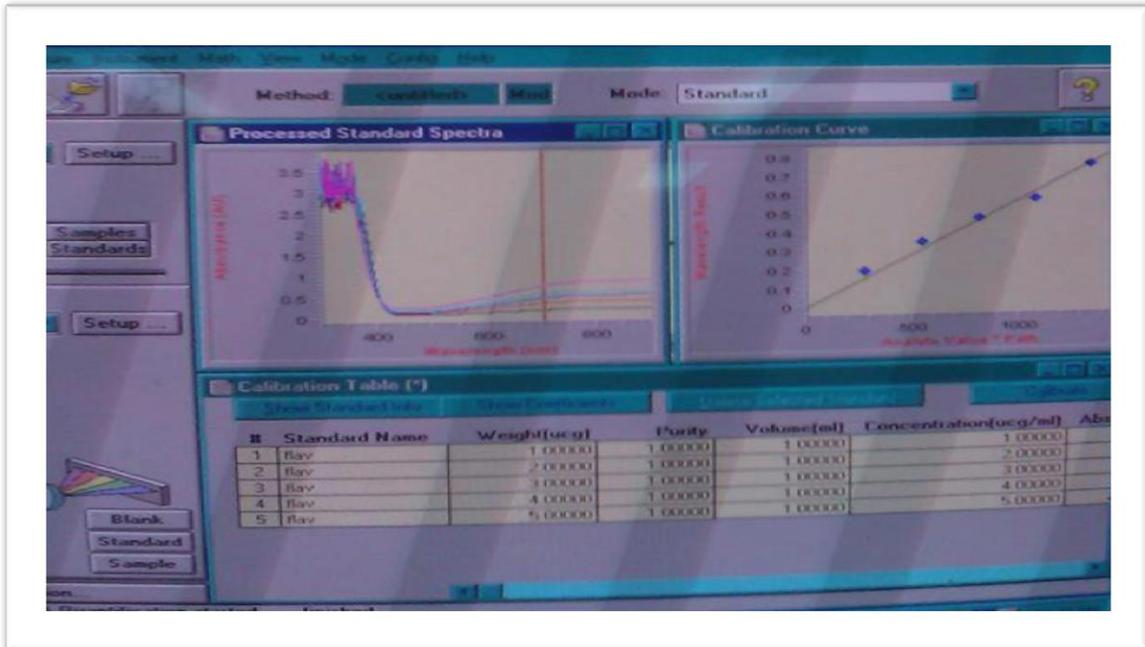
Determinación de la actividad antiinflamatoria.





Anexo N° 10

Cuantificación de flavonoides totales en extracto hidroalcoholico de *Capraria biflora*.





Anexo N° 11

Preparación del gel.





Anexo N° 12

Producto terminado



<p>Producto Centroamericano Hecho en Nicaragua por Laboratorios Zukia. S.A</p>		<p>Lote: 1990ds Elab: 25/03/2014 Venc: 25/03/2015 Contenido neto: 30 g</p>	
<p>Formula. Extracto de <i>Capraria biflora</i> 600mg, Carbopol, Propilenglicol, Glicerina, Trietanolamina, Agua. Reg. Sanitario: 00525</p>	<p>Perugel, Gel analgésica y antiinflamatoria a base de extracto de <i>Capraria biflora</i>.</p>  <p>USO TÓPICO</p>	<p>Indicaciones: Aplíquese para el tratamiento de dolores leves a moderados e inflamaciones. Almacenar en lugar fresco y seco.</p> 	<p>Perugel, Gel analgésica y antiinflamatoria a base de extracto de <i>Capraria biflora</i>.</p>  <p>USO TÓPICO</p>