UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA-LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

CARRERA DE FARMACIA

¡A la libertad por la Universidad!

TEMA:

Diseño y formulación de gel cicatrizante conteniendo extracto fluido de *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis*, Marzo-Diciembre 2017.

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

LICENCIADO QUÍMICO-FARMACÉUTICO

AUTORES:

- Br. William Ulises Baca Delgado.
- Br. Sara Valeria Carmona.
- Br. Lucia Yorlenys Chévez Arbizú.

TUTOR:

K. Núñez.

León, Diciembre 2018.

TEMA:

Diseño y formulación de gel cicatrizante conteniendo extracto fluido de *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis*, Marzo-Diciembre 2017.

DEDICATORIA:

Dedico el presente trabajo:

- A Dios por ser una luz, darme la vida, salud y sabiduría para seguir cumpliendo mis metas, mostrarme el camino del bien y la perseverancia necesaria para superar los obstáculos del día a día de la mejor manera posible; a mis padres Angélica Delgado y Gilberto Baca por ser mi fuente de superación, brindarme siempre su amor, consejos, comprensión y apoyo incondicional a lo largo de mi camino para mi desarrollo profesional, espiritual y moral.

  William Ulises Baca Delgado.

- A Dios y la Virgen por darme la oportunidad de vivir, estar como guía en el caminar de mi vida, bendiciéndome, fortaleciendo mi corazón, iluminando mi mente y por permitirme conocer personas que me han dado su apoyo durante todo el periodo de estudio; a mi mamá Esperanza Carmona, mis abuelos Sara Pineda y Francisco Carmona por darme todo su amor, estar siempre a mi lado, ser mi inspiración y motivo para seguir luchando cada día.

  Sara Valeria Carmona.

- Al creador por brindarme fortaleza, dedicación en mis estudios, acompañarme en los momentos más difíciles de mi existencia y nunca dejarme sola; a mis compañeros que gracias a su compañía hicieron de esta experiencia una de las más alegres y especiales; a mis padres Darmalila Arbizú y Diomedes Chévez por ser el pilar fundamental de mi vida, formándome con buenos sentimientos, principios y valores para lograr ser una persona de bien.

  Lucia Yorlenys Chévez Arbizú.

AGRADECIMIENTO:

Agradecemos infinitamente:

- A Dios y la Virgen María por darnos el regalo de la vida, estar siempre con nosotros, por todas sus bendiciones y permitirnos culminar con éxito nuestra investigación.
- A nuestra familia por todo el apoyo y amor incondicional brindado a lo largo de nuestra formación.
- A nuestro tutor Lic. Kelvin Núñez Martínez por brindarnos su tiempo, apoyo, disposición y colaboración incondicional en la realización de este trabajo.
- A los profesores de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN-León por formarnos como profesionales farmacéuticos.
- A la Lic. Lady Mejía, Violeta Bravo y el Dr. Alex Saldaña quienes nos brindaron su apoyo en la parte experimental.
- A las demás personas que de una u otra manera colaboraron para que esta investigación se pudiera llevar a cabo.

ÍNDICE:

Contenido. **Pág.**

I. Introducción……..... 1
II. Planteamiento del problema……..... 2
III. Objetivos……..... 3
IV. Marco teórico……..... 4
1. Plantas medicinales……..... 4
1.1. *Aloe vera*……. 4
1.2. *Plantago major*……. 8
1.3. *Calendula officinalis*……..... 12
2. Terapia tópica…….. 16
3. Fitoterapia básica de la piel……... 19
4. Estructura general de la piel y sus componentes…… 19
5. Cicatrización……. 25
6. Geles……. 28
7. Excipientes…….. 32
7.1. Requisitos que deben cumplir los excipientes……. 32
7.2. Ficha técnica de excipientes……... 33
7.2.1. Metilparaben…….. 33
7.2.2. Propilparaben……. 34
7.2.3. Carbopol 940…….. 35
7.2.4. Trietanolamina……... 36
7.2.5. Propilenglicol……..... 37
8. Gel de referencia……. 38
9. Experimentación animal……. 39
10. Animal de experimentación…… 41
11. Control de calidad…… 43
11.1. Control de calidad de droga cruda……... 43
11.2. Control de calidad de extractos fluidos…… 45
11.3. Control de calidad de formulaciones…… 48
11.4. Control de calidad de producto terminado…… 49
V. Hipótesis……. 50
VI. Material y método…….. 51
1. Diseño metodológico……... 51
2. Parte experimental…… 55
VII. Resultados y análisis de resultados…… 67
VIII. Conclusiones……. 98
IX. Recomendaciones……... 99
X. Referencias bibliográficas…… 100
XI. Cronograma……..... 106
XII. Anexos…… 107

INTRODUCCIÓN:

Los fitoterápicos utilizados con potencial terapéutico por el contenido de sustancias activas presentes en extractos vegetales procedentes de especies medicinales, requieren un proceso de diseño y formulación que conlleva establecer etapas y procedimientos antes de definir la forma farmacéutica final. Los tratamientos convencionales son de costo elevado y reacciones adversas ocasionales, por lo cual evidenciar la actividad cicatrizante de especies vegetales medicinales como alternativas en una forma farmacéutica de gel que contemplen mejor o igual efecto cicatrizante y bajo costo en comparación a los productos farmacéuticos convencionales, consideramos es provechoso en la investigación.

En los estudios previos sobre las especies analizadas en la investigación se encontraron evaluaciones de la actividad cicatrizante y antiinflamatoria de crema a base de *Calendula officinalis* al 1%, pomada de *Plantago major* al 15%, gel de *Aloe vera* solo y con *Calendula officinalis*, así como preparaciones hidroalcohólicas de *Plantago major* y extractos secos de *Calendula officinalis*, demostrando en todos los resultados que las especies en estudio favorecían los procesos de cicatrización en heridas inducidas en animales.

Actualmente no existe un producto natural con efecto cicatrizante comercializado nacionalmente que incorpore las especies vegetales *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis*, por lo que el presente estudio plantea la combinación de esas especies para posterior diseño y formulación de un fitofármaco con efectividad terapéutica evidenciada, mejor o igual a los productos convencionales, cumpliendo con el RTCA 11.03.56:09 de productos naturales medicinales para uso humano, verificación de la calidad, siendo provechoso para la población Nicaragüense con dificultades de acceder a los productos farmacéuticos convencionales, al disponer de una opción terapéutica segura y económica.

El gel diseñado y formulado fue sometido a ensayos de actividad cicatrizante en hámsteres sirio dorado, cuya efectividad cicatrizante fue mejor en comparación con un gel de referencia.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

¿Cómo diseñar y formular un gel a base de extracto fluido de *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis* con efecto cicatrizante?

OBJETIVOS:

Objetivo General:

- Diseñar y formular un gel cicatrizante conteniendo extracto fluido de *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis*.

Objetivos Específicos:

- Establecer los parámetros idóneos de extracción droga/solvente y concentración de solvente de *Plantago major* y *Calendula officinalis.*
- Evaluar los parámetros de calidad de los extractos vegetales de acuerdo a la Norma Ramal Ecuatoriana del control de calidad de fitofármacos.
- Seleccionar la formulación ideal que posea características organolépticas y fisicoquímicas más convenientes a partir de pilotos evaluados.
- Evaluar los parámetros de calidad del producto terminado de acuerdo al RTCA 11.03.56:09 de productos naturales medicinales para uso humano, verificación de la calidad.
- Determinar la efectividad cicatrizante del gel en heridas inducidas en hámsteres sirio dorado.

MARCO TEÓRICO:

1. Plantas medicinales:

1.1 *Aloe vera*:

Figura Nº1: *Aloe vera*. (11)

1.1.1 Clasificación Taxonómica:

- Reino: *Plantae.*
- Subreino: *Tracheobionta.*
- División: *Magnoliophyta.*
- Clase: *Liliopsida.*
- Subclase: *Liliidae.*
- Orden: *Liliales.*
- Familia: *Liliaceae.*
- Subfamilia: *Asphodeloideae.*
- Género: *Aloe.*
- Especie: *A. vera.*
- Nombre común: Acíbar, sábila, aloe de Barbados, aloe de Curazao, aloe, aloevera, azabila, babosa, gamonita, pita perfoliada, pita zabila, yerba babosa, zabida, zabin, zabira, zadiba, zambana, zavida, entre otros.

1.1.2 Parte utilizada:

- Para fines terapéuticos se usan las hojas frescas y zumo en forma de pulpa.

1.1.3 Características Generales:

1.1.3.1 Descripción botánica:

La suculenta *A. vera*, similar al cactus, tiene tallo corto y grueso donde van creciendo las hojas en forma de rosetón, sin rebrotes laterales, con una altura de 30-100cm. Las hojas son gruesas, carnudas, largas, anchas, con puntas espinadas en los bordes con dientes de 2mm. Miden entre 30-60cm de largo por 7-8cm de ancho, dispuestas en forma de rosetas basales de hasta 20 hojas. En la parte inferior tienen forma convexa, con borde rosáceo pálido, distanciadas entre sí por 10-20mm, llegando a pesar 1.5kg. (12) (13)

Las flores son largas en forma de tubo rojizo anaranjado o amarillento en corimbos espigados. La inflorescencia incluida el pedúnculo tiene 70-100cm de alto, en racimo de 30-50cm por 5-6cm. Los estambres miden 30-35mm. El cáliz es tubuloso de 6 divisiones verdosas en el limbo, el resto es rojizo anaranjado. Los estambres salen del cáliz. El fruto es una cápsula oblonga de 20-25mm por 6-8mm, con semillas centimétricas, marcada con 3 ranuras de 3 celdas, granos aplanados y angulosos. La raíz es larga, se extiende en forma plana por la tierra, formando un rizoma que puede ser dividido para propagar la planta. (12) (13)

1.1.3.2 Origen y distribución:

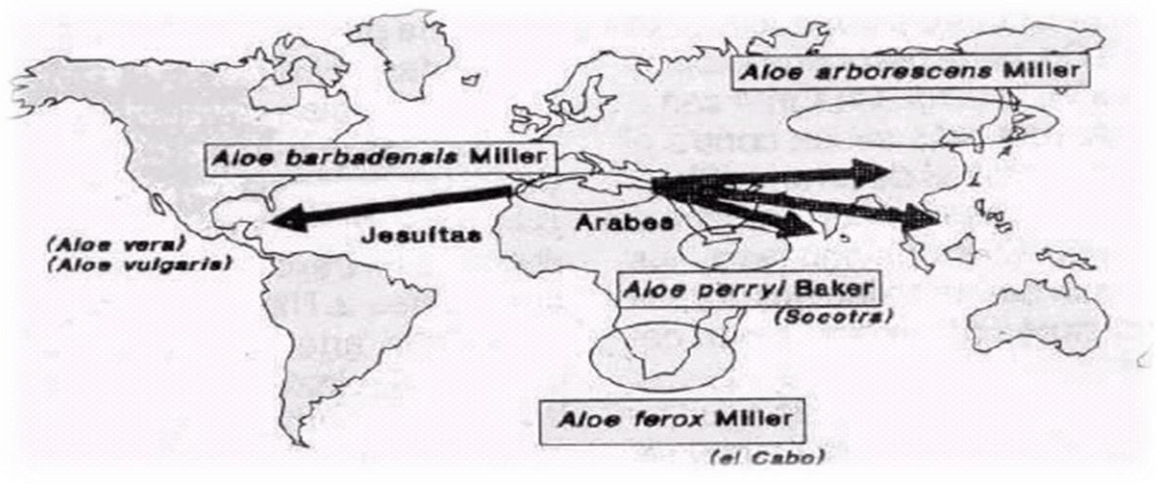


Figura Nº2: Origen y distribución del *Aloe vera*. (14)

A. vera es una planta que se originó en Arabia y noroeste de África. Se encuentra distribuida de forma silvestre o cultivada en el Norte de África, Asia, Medio oriente y las Américas, especialmente las Antillas y la precordillera Andina.

Existen alrededor de 360 especies. El nombre sábila, procede de la voz árabe "Sabaira" que significa "amargo", el género científico *Aloe* proviene de la palabra árabe "Alloeh", que significa "sustancia brillante amargosa". En el continente americano, su introducción fue realizada por Cristóbal Colón, quien la traía como parte de los remedios del botiquín abordo. (12)

1.1.3.3 Composición química:

La especie *A. vera* tiene cerca de 200 elementos constitutivos que trabajan en forma conjunta produciendo numerosos efectos benéficos. Sus principales componentes son:

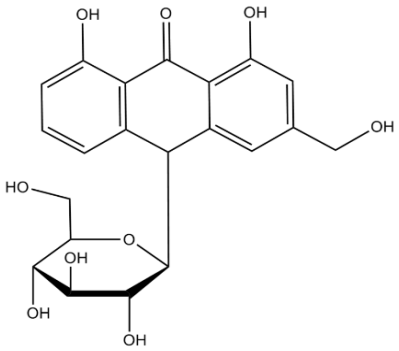


Figura Nº3: Aloína. (15)

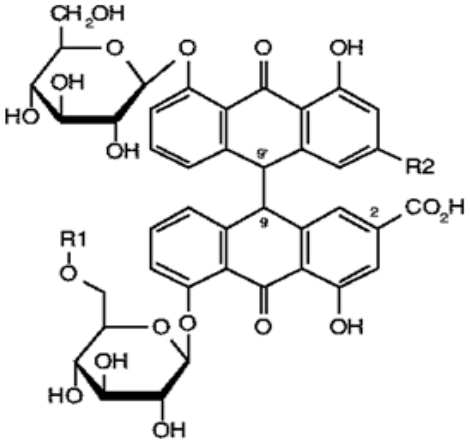


Figura Nº4: Mucílago. (16)

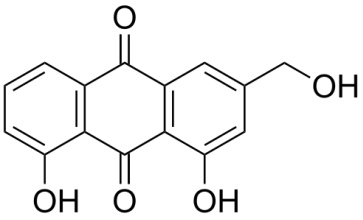


Figura Nº5: Emodina. (17)

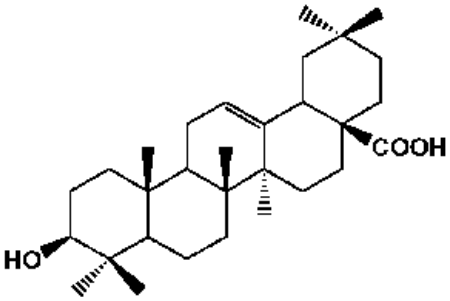


Figura Nº6: Saponina. (18)

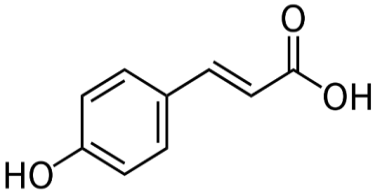


Figura Nº7: Ácido p-cumárico. (19)

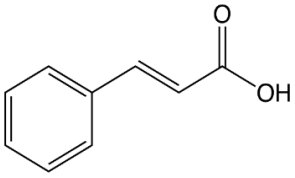


Figura Nº8: Ácido Cinámico. (20)

1.1.4 Principales usos medicinales:

- Alivia el escozor por picaduras de insectos.
- Alivia torceduras, artritis, dolores musculares y muelas.
- Desaparece ampollas, venas varicosas, arrugas, hemorroides, irritaciones cutáneas, acné, manchas de sol, quemaduras, hongos, heridas, cicatrices, colitis ulcerosa, colon irritable y enfermedad de Crohn.
- Protector solar, laxante.

1.1.5 Propiedades:

- Antiinflamatoria, analgésica, anticoagulante, antimicrobiana, antiséptico, antifúngica, antiviral.
- Cicatrizante.
- Depurativa, antitóxica.
- Energética, nutritiva.
- Hidratante.
- Inmunoestimulante.
- Regenerativa de tejidos.

1.1.6 Contraindicaciones y precauciones:

- Contraindicado en niños menores de 12 años, embarazo, lactancia.
- Administrar con precaución en diabéticos e intervenciones quirúrgicas.
- Usar con precaución durante la menstruación.
- Usar con precaución en personas alérgicas a la planta.

1.1.7 Reacciones adversas:

- Coloración rojiza en la orina, cólicos gastrointestinales, diarrea.
- Problemas cardíacos y musculares por pérdida excesiva de potasio. (12) (13)

1.2 *Plantago major*:

1.2.1 Clasificación Taxonómica:

Figura Nº9: *Plantago major*. (21)

- Reino: *Plantae.*
- Subreino: *Tracheobionta.*
- División: *Magnoliophyta.*
- Clase: *Magnoliopsida.*
- Subclase: *Asteridae.*
- Orden: *Lamiales.*
- Familia: *Plantaginaceae.*
- Subfamilia: *Nymphalinae.*
- Género: *Plantago.*
- Especie: *P. major.*
- Nombre común: Alpiste, ballico, cañamón, cinco venas, gitanilla, grana, hierba de las siete costillas y venas, lengua de carnero, llantel mayor, llantén, pelosilla, pelusa, plantago, yantén, entre otros.

1.2.2 Parte utilizada:

- Para fines terapéuticos se usan las hojas, flores y semillas.

1.2.3 Características Generales:

1.2.3.1 Descripción botánica:

P. major es una planta herbácea perenne con tallo no ramificado, erecto, grueso, formando un tronco compacto, alcanza los 30-65cm de altura. Tiene un rizoma corto con raicillas amarillas. Posee hojas dentadas, gruesas coriáceas, con limbo oval, alternas, basales, dispuestas en roseta con 3-6 nerviaciones longitudinales que se estrechan y continúan en el pecíolo acanalado. Miden de 5-20cm de largo por 4-15cm de ancho. Tiene 1-30 inflorescencias con pedúnculos acanalados de 6-30cm de largo. Sus flores son verde blancuzco en espigas linear-cilíndricas de 3-20cm de largo, densamente apretadas y separadas en la parte inferior del raquis, brácteas-ovado lanceoladas de 0.5-1mm de largo durante la floración. (22) (23)

Sus frutos son cápsulas globosas o elipsoide de 2-5mm de largo, café oscuro, pixidios, con dehiscencia próxima a la mitad con 6-30 semillas, cuerpo translúcido de color café rojizo oscuro con textura rugosa. Su raíz principal es degenerada, superada por las raicillas, dando aspecto de raíces fibrosas.

1.2.3.2 Origen y distribución:

Figura Nº10: Origen y distribución del *Plantago major*. (24)

P. major es originario de la región Euroasiática y Norafricana. Se distribuye en casi toda Europa, África del norte, Asia occidental, América del Norte y América Latina.

En 1550 se desarrolló un tráfico de 2 direcciones entre el viejo y nuevo mundo. Los españoles trajeron plantas medicinales, especialmente aromáticas de la familia *Lamiaceae* y otras como el llantén que acompañó a los primeros europeos por los bosques vírgenes de América del Norte y los indios lo llamaron "huella de los cara pálida". (23)

1.2.3.3 Composición química:

La actividad terapéutica de la especie *P. major* se le atribuye a la interacción de varios compuestos, entre los cuales se encuentran:

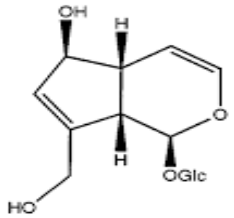


Figura Nº11: Aucubina. (25)

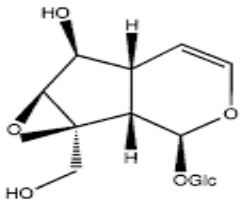


Figura Nº12: Catalpol. (25)

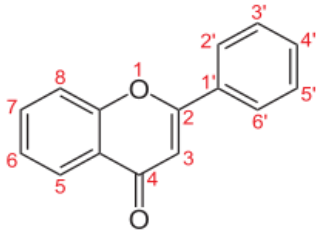


Figura Nº13: Flavonoide. (26)

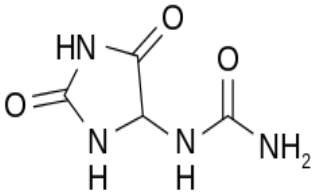


Figura Nº14: Alantoína. (27)

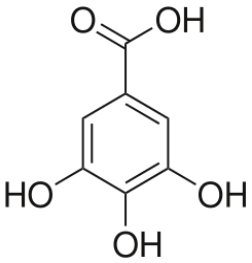


Figura Nº15: Ácido Gálico. (28)

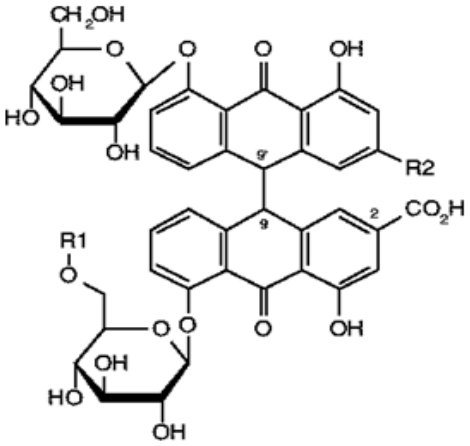


Figura Nº16: Mucílago. (16)

1.2.4 Principales usos medicinales:

- Alivia la hinchazón producida por picadura de insectos.
- Alivia dolores de garganta, tos, afonía y dolores de menstruación.
- Cicatriza fisuras anales, llagas en encías y quemaduras.
- Favorece la depuración y coagulación de la sangre.
- Reduce hemorroides y detiene la diarrea.

1.2.5 Propiedades:

- Antiinflamatoria, antibiótica, antiséptica, antihemorrágico, antialérgico, astringente.
- Bacteriostático.
- Cicatrizante, regenerante, calmante.
- Depurativo, saciante, diurético.
- Expectorante, emoliente.
- Hipocolesterolemiante.

1.2.6 Contraindicaciones y precauciones:

- Contraindicado en casos de estreñimiento.
- Contraindicado en mujeres embarazadas y recién nacidos.
- Utilizar con precaución en personas alérgicas a la planta.

1.2.7 Reacciones adversas:

- No tiene efectos secundarios si es consumido por vía oral, pero se puede generar reacciones alérgicas en personas susceptibles si se usa directamente sobre la piel. (22) (23)

1.3 *Calendula officinalis:*

1.3.1 Clasificación Taxonómica:

Figura Nº17: *Calendula officinalis*. (29)

- Reino: *Plantae.*
- Subreino: *Tracheobionta.*
- División: *Magnoliophyta.*
- Clase: *Magnoliopsida.*
- Subclase: *Asteridae.*
- Orden: *Asterales.*
- Familia: *Asteraceae.*
- Subfamilia: *Asteroideae.*
- Género: *Caléndula.*
- Especie: *C. officinalis.*
- Nombre común: Azucena, maravilla, caldo, caléndula, calta, caréndula, clavel, clavel de huerto, clavelina, clavel silvestre, corona de rey, espantanovios, flamenquilla, flor de difunto, flor de pastor, flor de todos los meses, margarita, marquesita, reinita, tarántula, tudescas, entre otros.

1.3.2 Parte utilizada:

- Para fines terapéuticos se utiliza toda la planta.

1.3.3 Características Generales:

1.3.3.1 Descripción botánica:

C. officinalis es una planta herbácea, aromática, glandular, de anual a perenne, leñosa únicamente en la base. El tallo de 20-55cm de altura, anguloso cubierto de pellos, ramificado, erguido. Las inflorescencias en capítulos de 3-5cm de ancho, son amarillo anaranjado. Las hojas de 7-14cm de largo por 1-4cm de ancho, alternas, gruesas, simples, oblongas lanceoladas o espatuladas. Presenta flores amarrillas tubulosas masculinas en el centro del capítulo floral y flores naranjas liguladas femeninas en la periferia, se disponen en capítulos o cabecillas que se reclinan después de que han florecido, de color amarillo oro, naranja o blanco. (30)

Los frutos son aquenios encorvados, provistos de púas dorsales membranosas que alternan con otros cimbiformes más cortos de forma navicular. Dentro del fruto se encuentra la semilla y embrión que poseen una curvatura y forma cónica. Posee una raíz principal de 30cm pivotante y puntiaguda.

1.3.3.2 Origen y distribución:

Figura Nº18: Origen y distribución de *Calendula officinalis*. (31)

No se sabe realmente de dónde procede, pero se cree que del centro y este de Europa y área mediterránea, del cruce de otras especies del género caléndula, quizá de *C. arvensis*, maravilla silvestre y alguna otra.

El nombre caléndula proviene del latín "*Calendae*", que significa "calendario", designa el primer día de cada mes. Al igual que los girasoles, sus flores siguen el movimiento del sol, conociéndose con el nombre de "S*olsequium*", que significa "que sigue al sol". (32)

1.3.3.3 Composición química:

La especie *C. officinalis* posee un amplio espectro de compuestos químicos con diversas acciones terapéuticas. Entre los compuestos más investigados dado su interés farmacológico están:

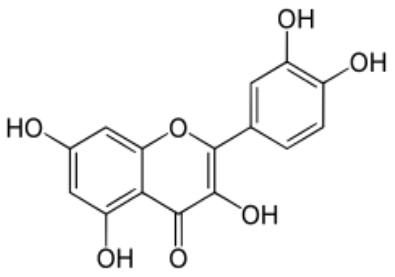


Figura Nº19: Quercetina. (33)

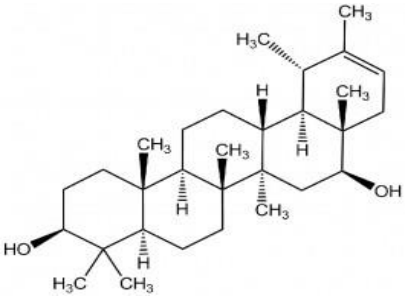


Figura Nº20: Faradiol. (34)

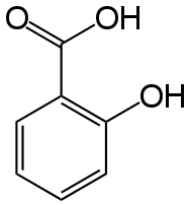


Figura Nº21: Ácido Salicílico. (35)

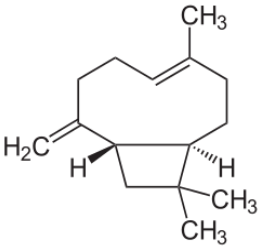


Figura Nº22: Cariofileno. (36)

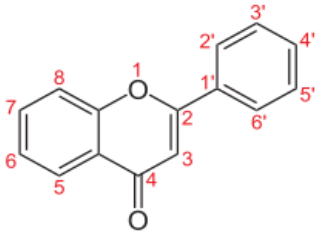


Figura Nº23: Flavonoide. (26)

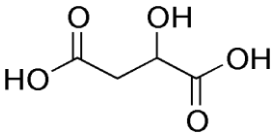


Figura Nº24: Ácido Málico. (37)

1.3.4. Principales usos medicinales:

- Alivia quemaduras, inflamación, dolor.
- Alivia la indigestión y gastritis.
- Ayuda a recuperarse de gingivitis, laringitis, amigdalitis y llagas en la boca.
- Mejora los abscesos, forúnculos, dermatitis, grietas y sequedad.
- Regenerante de la piel, cicatriza heridas y alivia picaduras de insectos.
- Regula la menstruación y reduce los dolores.

1.3.5 Propiedades:

- Antiinflamatoria, antiemética, inmunoestimulante, antiséptica, antibacteriana, antiviral, antifúngica, antiespasmódica, antiulcerosa.
- Cicatrizante, regenerante, emoliente.
- Colérica, hipoglucemiante.
- Emenagoga.
- Hepatoprotectora.

1.3.6 Contraindicaciones y precauciones:

- Contraindicado durante el embarazo y lactancia.
- Usar con precaución en personas con hipersensibilidad a la caléndula u otras especies de la misma familia.

1.3.7 Reacciones adversas:

- Dermatitis atópica rebelde.
- Alergia de contacto. (32)

2. Terapia Tópica:

2.1 Concepto:

Es la parte de la terapéutica dermatológica que aplica sustancias sobre la piel o mucosas para aliviar o curar lesiones. En terapia tópica las sustancias farmacológicamente inertes, además de actuar como vehículo ejercen un efecto físico importante que usados adecuadamente resuelven numerosas dermatosis, por lo tanto, la selección de estos debe hacerse cuidadosamente.

En dermatología se puede elegir entre la terapia tópica, en la cual el principio activo entra en la piel, se distribuye en todo el organismo y posteriormente es eliminado; o la terapia sistémica donde el principio activo se distribuye por todo el organismo, llegando solamente una porción a la piel.

2.2 Consideraciones farmacocinéticas:

Cuando los principios activos se aplican en forma tópica, migran por proceso de difusión pasiva. El estrato córneo es la principal vía de penetración cuando está intacto, es la barrera más importante, generándose entre la epidermis y tejido subcutáneo un gradiente de concentración. A medida que se produce la mejoría clínica y aparece un estrato córneo normal, la absorción se enlentece, siendo necesario aumentar la concentración del principio activo. Existen variaciones regionales en la absorción de los principios activos, relacionados con el grosor del estrato córneo. La absorción es menor en plantas y palmas, mayor en rostro y antebrazos y muy marcada en el escroto y las mucosas.

La variación regional se toma en cuenta al elegir el vehículo y concentración de los principios activos. La hidratación del estrato córneo aumenta la permeabilidad de las drogas y disminuye la resistencia a la difusión, incrementando la superficie de absorción cutánea. Esto se logra en la práctica clínica usando vendajes y vehículos oclusivos (grasas). (38)

2.3 Clasificación de la terapia tópica:

2.3.1 Según mecanismo de acción:

2.3.1.1 Terapia empírica: Es aquella cuya efectividad ha sido demostrada en estudios doble ciego, aunque su mecanismo de acción sea desconocido.

2.3.1.2 Terapia específica: Terapia en la cual su acción es bien conocida y ha sido comprobada.

2.3.1.3 Terapia placebo: Comprenden aquellas terapias cuya efectividad no tiene relación con la farmacología de la droga.

2.3.2 Según forma farmacéutica:

Esta clasificación depende del vehículo utilizado. El vehículo ejerce un efecto físico en contacto con la piel. En la terapia tópica la selección del vehículo es importante, a diferencia de la terapia sistémica, ya que no sólo funciona como un sistema dispensador del principio activo, sino que ejerce una acción terapéutica debido a su efecto beneficioso inespecífico sobre la piel lesionada, como refrescante, protector, emoliente, oclusivo y astringente.

2.4 Elementos básicos usados en preparaciones tópicas:

Los materiales básicos son los polvos, grasas y líquidos.

2.4.1 Polvos: Se utilizan principalmente los polvos sueltos de naturaleza orgánica como el maíz, trigo, arroz y papa, e inorgánicos como el óxido de zinc en polvo suelto, pastas y lociones para agitar.

2.4.2 Grasas: Según su origen hay grasas vegetales, minerales y animales, y por su consistencia grasas líquidas (fluidas), aceites, semisólidas y sólidas.

2.4.3 Líquidos: El más utilizado es el agua purificada. Es el ingrediente más usado en dermatología. También se usa glicerol, etanol puro, propilenglicol (solvente de esteroides en cremas y ungüentos), éter (solvente en tinturas y colodiones), sorbitol como humectante en crema al 70% en agua. (38)

2.5 Clasificación de las preparaciones farmacéuticas para uso externo:

2.5.1 Preparaciones semisólidas:

Son formas de dosificación aplicadas sobre la piel generalmente sin fricción. Incluyen cremas, ungüentos y pastas.

2.5.1.1 Cremas: Son bases emulsificadas semisólidas. Se encuentran las cremas O/W (emulsión aceite en agua) llamadas evanescentes, son miscibles en agua, refrescantes, emolientes, suavizantes, no oclusivas y bien absorbidas en la piel. Las cremas W/O (agua en aceite) son poco removibles con agua, resistentes al roce y oclusivas. Son emolientes, lubricantes y de gran poder hidratante.

2.5.1.2 Ungüentos: Son preparaciones semisólidas, homogéneas o heterogéneas, cuya base es de naturaleza grasa. Contienen principios activos disueltos o insolubles dispersos en bases oleosas como la vaselina o bases de absorción como la eucerina.

2.5.1.3 Pastas: Son preparaciones sólidas y rígidas. Contienen gran cantidad de material finamente pulverizado (20-50%). Los polvos más usados son el óxido de zinc, talco, almidón, bentonita, dióxido de titanio y óxido de aluminio.

2.6 Consideraciones al iniciar la terapia tópica:

2.6.1 Frecuencia de administración**:** Al incrementar la frecuencia de administración de preparados emolientes en dermatosis crónicas, mayor será el efecto y mejoría.

2.6.2 Oclusión: Aumenta la penetración de las drogas, efecto irritante y tóxico de los medicamentos y promueve la foliculitis, infecciones y miliaria.

2.6.3 Efectos indeseables: Los más comunes son la toxicidad aguda y crónica, efectos locales, sistémicos, sensibilización, fototoxicidad y fotosensibilización.

2.6.4 Uso de preparaciones extemporánea vs industriales: A diferencia de los magistrales, los patentados no siempre declaran la fórmula exacta, sólo se especifica la droga activa y a veces el vehículo. Los vehículos extemporáneos son aplicados en terapia individualizada y como alternativas de usar drogas inestables o estabilidad desconocida. (38)

3. Fitoterapia Básica de la piel:

3.1 Concepto:

Se refiere al empleo de plantas medicinales en dermatología para tratar diversas dermatosis o lesiones mecánicas a nivel de piel.

3.2 Sustancias de uso externo utilizadas en fitoterapia de la piel:

3.2.1 Astringentes: Esta acción es realizada por plantas ricas en taninos, ácidos orgánicos, flavonoides y antocianinas.

3.2.2 Emolientes y suavizantes: Esta acción se debe a mucílagos, pectinas y almidón.

3.2.3 Antisépticos: Esta acción se debe al contenido de esencia, naftoquinonas y lactonas.

3.2.4 Antifúngicos: Esta acción se debe al efecto antiséptico de algunos compuestos como carvacrol y timol.

3.2.5 Cicatrizantes: Esta acción se debe a sustancias como alantoína o asiaticósido.

3.2.6 Productos capilares: Son estimulantes del folículo piloso y tonifican el cuero cabelludo.

3.2.7 Materias grasas: Ciertos aceites ricos en glicéridos, vitamina E, ácidos grasos esenciales y lecitinas ejercen acción suavizante, protectora y nutritiva sobre la piel.

3.2.8 Colorantes: Contenido en plantas ricas en naftoquinonas.

4. Estructura general de la piel y sus componentes:

La piel o sistema tegumentario, es el mayor órgano del cuerpo humano con un peso aproximado de 5kg, una superficie total entre 1.5-2m^2 dependiendo del volumen de la persona y 1/6 del peso corporal total. Actúa como barrera protectora que aísla al organismo del medio que lo rodea, protegiéndolo y manteniendo íntegras sus estructuras. (39)

4.1 Histología de la piel:

Se encarga del estudio de las estructuras celulares en forma de tejido. En las distintas partes del cuerpo la piel puede variar en espesor, color, presencia de vello y glándulas.

4.1.1 Capas constitutivas:

4.1.1.1 Película Hidrolipídica:

Es una emulsión de agua y grasa que se encuentra en la superficie cutánea, hace la piel más flexible y la protege de bacterias y hongos. Su composición varía en función de la zona corporal o factores externos como hora del día o alguna enfermedad. La porción hidrófila tiene un pH ácido, por la presencia de ácido láctico, pirrolidocarbónico y aminoácidos, teniendo un pH entre 5.4-5.9, propiciando una flora bacteriana saludable que protege a la piel de microbios. En otras zonas del cuerpo como axilas, zona anal y genital, el pH se encuentra en torno a 6.5.

4.1.1.2 Epidermis:

Es la capa externa llamada también cutícula. Posee una capa externa de células muertas que se eliminan constantemente de la superficie de la piel y son sustituidas por células formadas en el estrato germinativo.

La epidermis está compuesta por:

4.1.1.2.1 Capa córnea: Es la más superficial de la epidermis, está formada por células escamosas planas y finas, en la superficie de la piel están muertas, desprendiéndose y sustituyéndose constantemente. Posee una parte compacta constituida por 15-20 capas de células córneas ancladas entre sí por desmosomas o tonofibrillas.

4.1.1.2.2 Capa lúcida o clara: Tiene queratinocitos diáfanos íntimamente agrupados llenos de un gel blando denominado eleidina, que se transforma en queratina.

4.1.1.2.3 Capa granulosa: Aquí comienza la queratinización. Las células en esta capa se distribuyen en una lámina de 2-4 capas de profundidad y están llenas de gránulos que se tiñen intensamente, denominados queratohialinas, necesaria para la formación de queratina. Como sucede con el estrato lúcido, esta capa puede faltar en algunas zonas de la piel. (40)

4.1.1.2.4 Capa espinosa: Está formado por 8-10 capas de células de forma irregular, con puentes intercelulares o desmosomas que unen células adyacentes dando un aspecto espinoso lleno de púas. Las células de esta capa son ricas en ácido ribonucleico (ARN), para la síntesis proteica de queratina.

4.1.1.2.5 Capa basal: Es una capa de células cilíndricas, siendo el único estrato donde sus células sufren mitosis. Esta actividad regeneradora hace que las células se trasladen a través de las otras capas hasta desprenderse de la superficie cutánea. El estrato espinoso y basal se conoce como estrato germinativo o capa de crecimiento.

4.1.1.3 Dermis:

Es 20-30 veces más gruesa que la epidermis, encontrando los anexos cutáneos córneos (pelos y uñas) y glandulares (glándulas sebáceas y sudoríparas). La dermis puede superar los 4mm en las plantas de los pies y manos. Su finura es máxima en los párpados y pene, donde rara vez supera los 0.5mm. La dermis se divide en dermis papilar fina llamada así por las papilas dispuestas en filas sobre su superficie, compuesta por tejido conectivo laxo, fibras de colágeno tipo III y asas capilares; y la dermis reticular gruesa compuesta por tejido conectivo denso, fibras de colágeno tipo I, fibras elásticas, mastocitos, reticulocitos y macrófagos. La dermis contiene fibras musculares esqueléticas y lisas.

4.1.1.3.1 Anexos o anejos cutáneos de la dermis:

4.1.1.3.1.1 Pelo: Son estructuras queratinizadas situadas en casi toda la superficie de la piel (excepto palmas, plantas, labios, pezones, partes de genitales externos y extremos distales de los dedos) que asientan en una invaginación epidérmica. Constan de tallo y raíz o folículos pilosos.

4.1.1.3.1.2 Uñas: Protegen la región distal de los dedos, defensa y pinza para manejar objetos pequeños. La lámina ungueal de forma rectangular es la estructura más visible de las uñas.

4.1.1.3.1.3 Glándulas sebáceas: Son glándulas holocrinas, es decir, excretan contenido celular productor lipídico que mantiene el manto hidrolipídico. Se encuentran en toda la piel excepto en palmas y plantas.

4.1.1.3.1.4 Glándulas sudoríparas: Se encuentran las ecrinas o merocrinas que controlan la temperatura y están localizadas en todo el cuerpo, en mayor cantidad en las palmas y plantas. (40)

Son las responsables de la producción de sudor compuesto de agua y sales como cloruro de sodio, amoníaco, ácido úrico, urea y ácido láctico; y las apocrinas que tienen funciones odoríferas, localizadas en los genitales y axilas. Producen una secreción que se contamina fácilmente con bacterias y produce el olor corporal característico.

4.1.1.4 Tejido subcutáneo (hipodermis):

Está compuesto de tejido conjuntivo laxo y adiposo, dando funciones de regulación térmica y movimiento a través del cuerpo. Representa la reserva energética más importante del organismo gracias al almacenamiento y liberación de ácidos grasos. Sus células grasas (adipocitos), son células voluminosas, con núcleo aplanado pegado en la periferia por una gota de lípido. Posee dos capas que son la capa areola que es la más externa y está en contacto con la dermis y la capa lamela que es la más profunda, las células son fusiformes (en forma de huso), pequeñas y se distribuyen horizontalmente.

4.1.1.5 Fascia profunda:

Es una capa de tejido conjuntivo muy denso y organizado que reviste las estructuras internas como los músculos, creando compartimientos que evitan su expansión excesiva y así no comprimir las venas. (40)

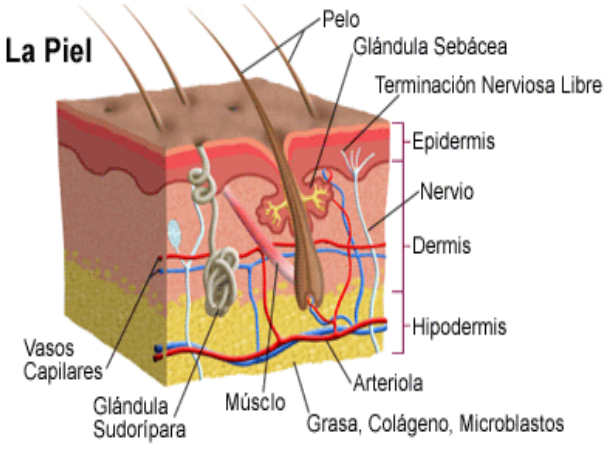


Figura Nº25: Estructura de la piel. (41)

4.1.2 Regeneración epitelial:

4.1.2.1 Crecimiento y reparación de la epidermis:

Al perderse células del estrato córneo, se sustituyen los queratinocitos por actividad mitótica para mantener el espesor de la epidermis formando nuevas células al mismo tiempo que se descaman del estrato córneo. Las células se empujan desde el estrato basal hasta desprenderse. Tras una abrasión se acelera el proceso eliminando capas celulares del estrato córneo, produciendo una intensa estimulación de la actividad mitótica del estrato basal, disminución del recambio o tiempo de maduración y reproducción de una población de células. Si la abrasión continúa durante un período prolongado, intensa actividad mitótica y menor tiempo de recambio, se produce un estrato córneo anormalmente grueso y aparición de callos. Las células que emigran a la superficie ascienden en columnas verticales independientes de 8-10 células basales activas, conociéndose el proceso como unidad proliferativa epidérmica o UPE.

4.1.2.2 Crecimiento y reparación de la dermis:

La dermis no se descama y regenera de una forma continua. La regeneración rápida sólo se produce en circunstancias no habituales, como en la cicatrización de heridas donde los fibroblastos se reproducen con rapidez y forman una masa densa de nuevas fibras de tejido conjuntivo, si no es sustituida por tejido normal queda una cicatriz. Si las fibras elásticas de la dermis se distienden en exceso, como en el embarazo u obesidad, se debilitarán y romperán, formando surcos deprimidos, rosados o azulados, con bordes dentados (desgarros) que, al cicatrizar pierden el color, quedando cicatrices lineares y brillantes blanco plata (estrías).

4.1.3 Funciones de la piel:

Las funciones de la piel son fundamentales y variadas para mantener la homeostasia. Entre las cuales se encuentran:

4.1.3.1 Protección: Protege a los tejidos de la invasión de microorganismos, sustancias químicas nocivas y disminuye la lesión mecánica de las estructuras subyacentes que podrían dañarse por traumatismos menores que se sufren de forma regular. (40)

4.1.3.2 Termorregulación: Regula la temperatura constante de 37ºC. Por ello se le da el nombre de corazón periférico. Se sitúa entre los 37ºC, aumentando a 37.6ºC al finalizar la tarde y disminuyendo a 36.2ºC por la mañana. Lo realiza por diferentes mecanismos como: Producción de calor (se produce por el metabolismo de los alimentos); y pérdida de calor: (para mantener la temperatura interna constante se regula la cantidad de calor perdido por diferentes mecanismos como evaporación, radiación, conducción y convección).

4.1.3.3 Sensibilidad: Existen receptores en la piel que detectan estímulos que originan sensaciones somáticas como presión, tacto, dolor y vibración.

4.1.3.4 Depósito: Es un reservorio de múltiples sustancias como minerales, sustancias grasas, sustancias orgánicas, hormonas, vitaminas, entre otras.

4.1.3.5 Emuntorio: El organismo a través del sudor y secreciones sebáceas excreta productos de desecho como ácido úrico, amoníaco y urea.

4.1.3.6 Antimicrobiana: Actúa como una barrera natural gracias a las células de Langerhans que trabajan con las células T.

4.1.3.7 Síntesis de vitamina D (función endocrina): Inicia cuando la piel se expone a la luz ultravioleta, haciendo que las moléculas del deshidrocolesterol se conviertan en el precursor colecalciferol, para transformarse en vitamina D.

4.1.3.8 Pigmentación: En la capa basal de la epidermis se encuentran las células melanógenas, productoras de melanina, que da distintas tonalidades a la piel. (40)

4.1.4 Composición química de la piel:

Está compuesta por 64% de agua, 33% de proteínas, 2% de grasa, 0.5% de sales minerales y 0.5% de otras sustancias. Las proteínas que la componen son estructurales fibrosas o escleroproteínas (elastina 0.3%, colágeno 2.9%, queratina 2%) y no estructurales o globulares en 1.7% (albuminas, globulinas, mucinas, mucoides, prolaminas e histonas). El 20% de agua se combina con las fibras de colágeno y no contribuye a dar sensación de humedad, el porcentaje restante se encuentra en forma libre entre las fibras. (42)

5. Cicatrización:

5.1 Concepto:

Es el conjunto de procesos biológicos que utiliza el organismo para la restitución del tejido lesionado hasta conseguir su normalidad funcional y recuperar su integridad.

5.2 Fases de cicatrización:

5.2.1 Fase latente, infiltración o inflamatoria:

Comprende entre el primer y segundo día. Se caracterizada por una respuesta vascular y celular, los capilares se dilatan, el volumen sanguíneo aumenta, disminuye la rapidez de la circulación de la sangre que lleva leucocitos y plasma que forma un exudado en la zona lesionada y se liberan sustancias como leucotaxina atractora de glóbulos blancos, la necrosina activadora del mecanismo de coagulación e histamina que aumenta la permeabilidad de las paredes capilares, permitiendo que líquidos, proteínas y leucocitos penetren en la zona. En esta fase las células lesionadas se desintegran habiendo tumefacción y la herida se cubre de una ligera costra o red de fibrina que después es absorbida.

5.2.2 Fase de fibroplasia, migración o proliferación:

Comprende entre el tercer y decimocuarto día. En este período aparecen los fibroblastos que forman el tejido granulado compuesto por sustancia fundamental y colágeno, se recanalizan los vasos linfáticos, se forman capilares sanguíneos, hay aumento de nuevo capilares y brotes linfáticos endoteliales en la zona herida. De la fibroplasia resulta la formación de un tejido granuloso (conectivo), posterior epitelización (queratinización). La herida aparece rosada debido a los capilares en el tejido granuloso y la zona es suave y tierna.

5.2.3 Fase de contracción, retracción o maduración:

Comprende entre el día 15 hasta lograr la cicatrización completa (6 meses a un año). Ocurre la epitelización y aumento de la fuerza de tensión de la piel (70-90% de la fuerza original), posteriormente se da la remodelación del colágeno y regresión endotelial observada por disminución del color cicatrizal. Hay una cicatrización debido a los fibroblastos una vez pasada la fibroplasia, los capilares y los brotes linfáticos endoteliales del nuevo tejido desaparecen y la cicatriz se encoge. (43)

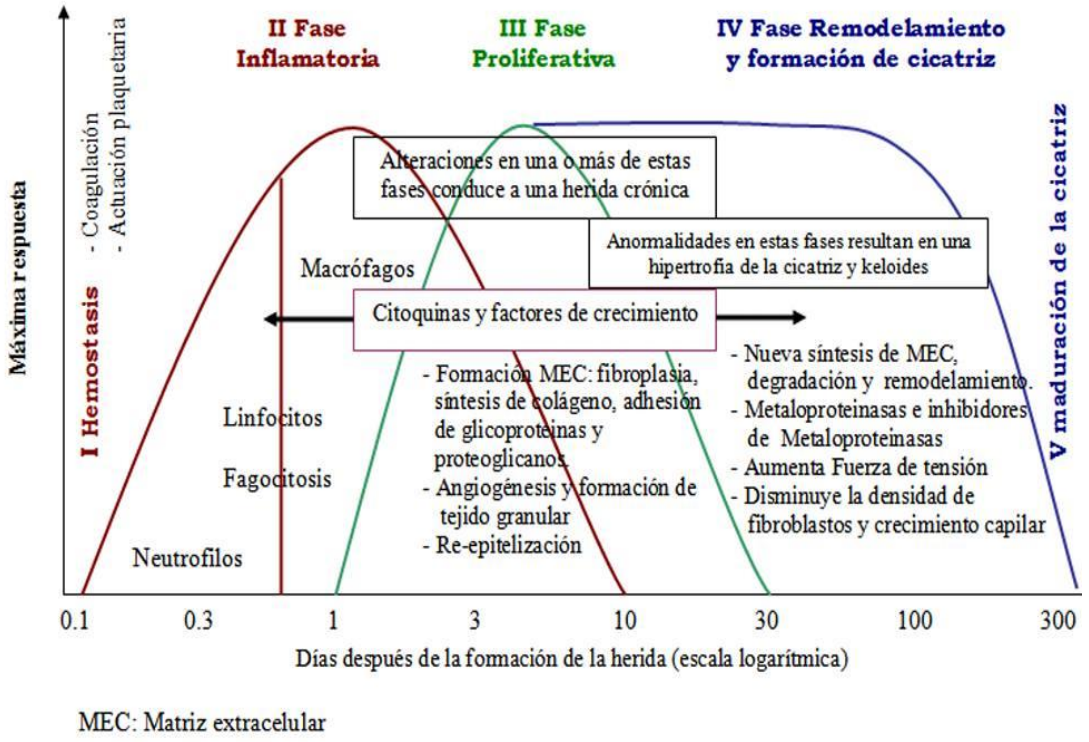


Figura Nº26: Fases de cicatrización. (44)

5.3 Clasificación de la cicatrización:

Existen 3 maneras de cicatrización que representan un método seguro de reparación y forma en que ocurra.

5.3.1 Cicatrización primaria o de primera intención:

Es cuando la herida después de suturada cura sin infectarse o separarse los bordes (sutura de una herida limpia). Hay granulación mínima, por tanto, la cicatriz es pequeña como las heridas quirúrgicas. Los tejidos cicatrizan por unión primaria cuando no hay complicaciones, edema mínimo, sin secreción local, en tiempo breve, sin separación de bordes y mínima formación de cicatriz. (43)

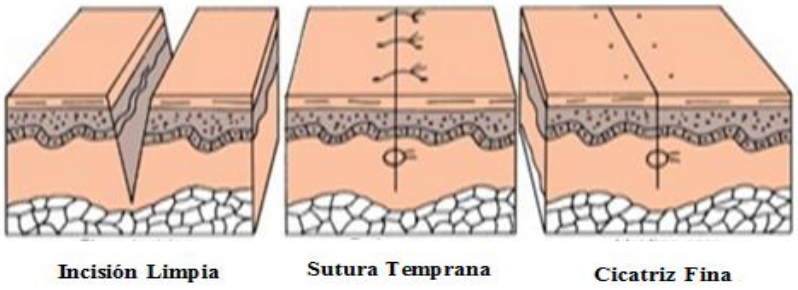


Figura Nº27: Cicatrización por primera intención. (45)

5.3.2 Cicatrización secundaria o de segunda intención:

Se refiere a la herida que los bordes no están afrontados o suturados y se deja granular hasta cicatrizar, haciendo que se forme mucho tejido de granulación y la cicatriz puede ser grande como las úlceras por presión que se llenan de nuevos tejidos, el proceso es lento y la costra que resulta es grande. Cuando la herida no se afronta por falta de una atención oportuna o indicación médica (heridas muy sucias), la cicatrización es prolongada y complicada.

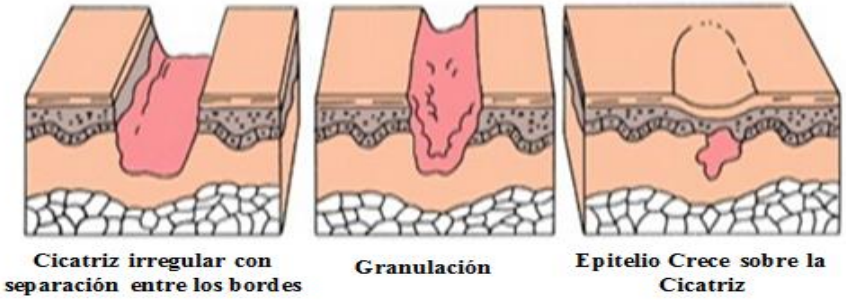


Figura Nº28: Cicatrización por segunda intención. (45)

5.3.3 Cicatrización terciaria, de tercera intención o cierre primario diferido:

Es una combinación de las dos anteriores, ya sea que la herida después de suturada sufre dehiscencia y posteriormente se vuelve a suturar, o se deja abierta al inicio y se sutura después. Es un método seguro de reparación en heridas muy contaminadas. Los tejidos cicatrizan por unión terciaria sin complicaciones, se limpia la herida, se deja abierta, se deja que granule y después se afrontan los bordes. (43)

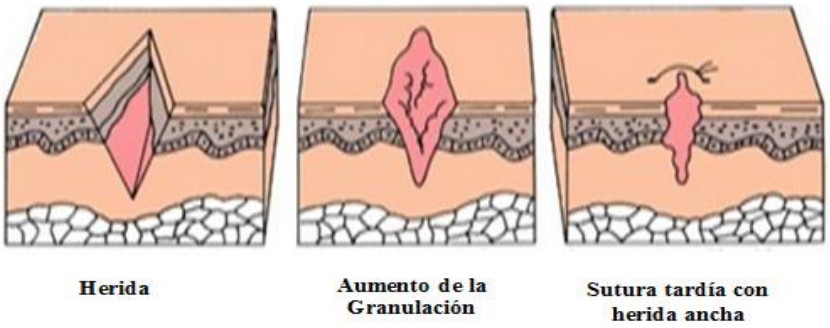


Figura Nº29: Cicatrización por tercera intención. (45)

5.4 Células que intervienen en la cicatrización:

5.4.1 Eritrocitos y leucocitos: Aportan oxígeno a la célula y eliminan el dióxido de carbono, mientras que los leucocitos funcionan como defensa inmunológica.

5.4.2 Plaquetas o trombocitos: Inician el proceso de la coagulación y producen importantes factores de crecimiento necesarios para la cicatrización.

5.4.3 Granulocitos y linfocitos: Son atraídos por sustancias liberadas en la quimiotaxis. Los linfocitos segregan sustancias que atacan a las bacterias.

5.4.4 Monocitos o fagocitos: Ingieren y destruyen material muerto o extraño. Se trasforman en macrófagos, además de producir enzimas y factores de crecimiento.

5.4.5 Macrófagos y fibroblastos: Los primeros aumentan con el trauma siendo atraídos por mensajeros químicos de la inflamación. Los segundos son células responsables de síntesis de colágeno y contracción del tejido cicatricial.

5.5 Factores que influyen en la cicatrización:

5.5.1 Factores locales: Riego sanguíneo, infección, movilidad de los tejidos, grado de destrucción hística, tejido donde ocurre la lesión, edema, radioterapia y tejidos desvitalizados o necrosados.

5.5.2 Factores generales: Edad, estado nutricional, factores endocrinos, salud general, entre otros (trastornos sanguíneos). (43)

6. Geles:

6.1 Concepto:

Son formas farmacéuticas coloidales transparentes de consistencia semirrígida, formadas por líquidos gelificados más o menos consistentes según el gelificante usado, de aplicación tópica con una fase sólida y una líquida.

6.2 Composición de los geles:

6.2.1 Disolventes o diluyentes: Agua, alcohol y aceites.

6.2.2 Agentes gelificantes: Se encuentran los polímeros que dan lugar a un gel dependiendo del pH del medio, polímeros que dan lugar a un gel por sí mismo independientemente del pH del medio y los reguladores de pH. (46)

6.3 Características de los geles:

Las principales características que presenta un gel son consistencia semisólida o fluida, aspecto transparente o turbio, estructura tipo continua, comportamiento pseudoplástico, pH entre 4.5-8.5 y tixotropía.

6.4 Propiedades físicas de los geles:

6.4.1 Propiedades de transición: Transición Sol-Gel (Punto de gelificación), retrogradación, envejecimiento físico y sinéresis.

6.4.2 Propiedades reológicas: Viscoelasticidad, tipos de fluidos, rigidez y ruptura de la fuerza.

6.5 Ventajas y desventajas de los geles:

6.5.1 Ventajas: Bien tolerados, producen frescor, lavables, tixotrópicos y adhesivos.

6.5.2 Desventajas: Incompatibilidad con numerosos principios activos, tendencia a la desecación y bajo poder de penetración (para tratamientos de superficie).

6.6 Clasificación de los geles:

6.6.1 Según su comportamiento frente al agua:

6.6.1.1 Geles hidrófilos o hidrogeles: Constituidos por agua, glicerina, propilenglicol y otros líquidos hidrofílicos. Gelificados por sustancias poliméricas como goma tragacanto, derivados de celulosa, polímeros carboxílicos, silicatos de aluminio y magnesio.

6.6.1.2 Geles hidrófobos, lipogeles u oleogeles: Constituidos por parafina líquida, aceites grasos gelificados por anhídrido silícico coloidal, jabones de aluminio y zinc.

6.6.2 Según número de fases que están constituidos:

6.6.2.1 Geles monofásicos: El medio líquido lo constituye una sola fase o líquidos miscibles como soluciones hidroalcohólica y aceites.

6.6.2.2 Geles bifásicos: Constituidos por dos fases líquidas inmiscibles, formándose una estructura transparente, con propiedades de semisólidos. Se subdividen en TOW geles que tienen dos fases micelares O/W en forma de cristales líquidos, transparentes y viscosos y TAS geles que son transparentes basados en emulsiones de siliconas. (46)

6.6.3 Según su viscosidad:

6.6.3.1 Geles fluidos: Tienen poca resistencia al movimiento de consistencia blanda.

6.6.3.2 Geles semisólidos: Tienen moderada resistencia al movimiento de consistencia semirrígida.

6.6.3.3 Geles sólidos: Tienen alta resistencia al movimiento y son muy rígidos, como los sticks desodorantes y colonias sólidas.

6.6.4 Según su estructura:

6.6.4.1 Geles elásticos: Un gel típico elástico es el de gelatina que tiene la propiedad de estirarse.

6.6.4.2 Geles no elásticos: El más conocido es el gel de ácido silícico que no tiene la propiedad de poder estirarse.

6.6.5 Naturaleza de la fase interna:

6.6.5.1 Inorgánicos: Como el magma de bentonita.

6.6.5.2 Orgánicos: Naturales como la goma arábiga y la gelatina y sintéticos como la carboximetilcelulosa sódica e hidroxipropilcelulosa.

6.7 Errores más frecuentes en la elaboración de geles:

Incorporación de burbujas de aire durante la agitación haciendo que el gel pierda transparencia, dando un aspecto opaco. No se da la formación del gel por tiempo de imbibición insuficiente, componentes, gelificantes incompatibles y pH del medio incorrecto.

6.8 Importancia de los geles:

Los geles son útiles por sus propiedades físicas y reológicas, presentando practicidad al ser utilizados gracias a sus componentes que confieren textura, viscosidad, estabilidad y microestructura, útiles para aplicaciones cosméticas y farmacéuticas, proporcionando una manera sencilla de aplicación al público en general. Existen diversos mecanismos de gelificación utilizados en la industria farmacéutica, obteniendo la gran variedad de geles que se comercializan. (46)

6.9 Mecanismo de formación de geles:

6.9.1 Polímeros que dan lugar a un gel dependiente del pH del medio:

Dan lugar a soluciones ácidas que al neutralizar con las bases adecuadas, aumentan la viscosidad y disminuyen la turbidez del medio. A bajos valores de pH se disocia una pequeña proporción de grupos carboxílicos del polímero, formando una espiral flexible.

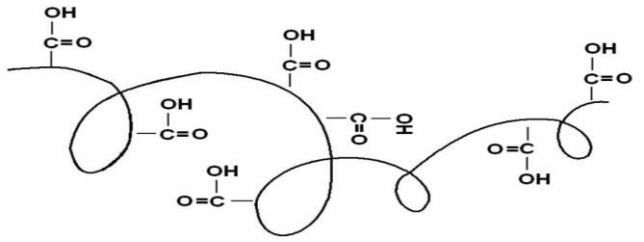


Figura Nº30: Espiral flexible de la molécula de carbopol. (46)

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. Si se agrega un exceso de base puede producir una pérdida de viscosidad al neutralizarse los grupos carboxílicos, al igual que electrólitos como cloruro de sodio, ya que los grupos carboxílicos cargados se rodean de cationes metálicos, produciéndose una neutralización de cargas, impidiendo la formación de una matriz rígida.

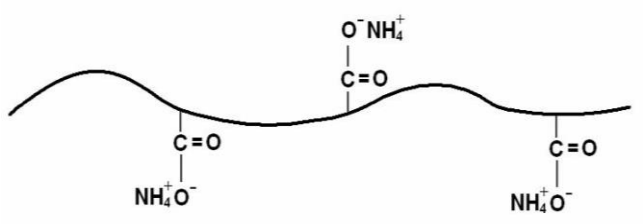


Figura Nº31: Molécula extendida del carbopol. (46)

6.9.2 Polímeros que dan lugar a un gel por sí mismo, independiente del pH del medio:

No precisan ser neutralizados para la formación del gel, gelifican por sí mismos, al formar puentes de hidrógeno entre el disolvente y los grupos funcionales del polímero. (46)

6.10 Estabilidad de los geles:

Los factores desencadenantes de la inestabilidad de un gel son temperatura, cambios de pH, agitación violenta y electrolitos. Los geles con el tiempo pierden su condición, estructura y pueden romperse. La estabilidad de un gel depende de su correcta formulación.

6.11 Aplicaciones:

Los geles son importantes en medicina, ya que tras su aplicación desaparecen rápida y completamente, otorgando un aspecto cosmético excelente. En dermatología se usan ampliamente en zonas pilosas como el cuero cabelludo, conducto auditivo externo o fosas nasales donde la aplicación de productos grasos es difícil de limpiar. Los geles admiten la incorporación de numerosos principios activos a través de su fase acuosa. (56)

7. Excipientes:

Son cualquier componente agregado a la formulación diferente del principio activo. Facilitan la preparación, conservación y administración de los medicamentos, ya que los principios activos por sí mismos no pueden ser absorbidos fácilmente por el organismo, siendo necesario administrarlos en forma apropiada disolviéndolo o mezclándolo con un excipiente.

7.1 Requisitos que deben cumplir los excipientes:

La forma farmacéutica condiciona el tipo de excipiente que podemos usar y operaciones de elaboración que influyen en la farmacocinética y farmacodinamia del medicamento. Los excipientes deben ser estables, inertes, inocuos, atóxicos, no irritantes y accesibles. (46)

7.2 Ficha técnica de excipientes:

7.2.1 Metilparaben:

7.2.1.1 Descripción:

Polvo cristalino, blanco, estable a temperatura ambiente, olor característico, sabor ardiente.

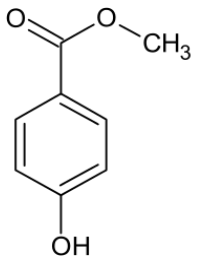


Figura Nº32: Estructura del metilparaben. (47)

7.2.1.2 Sinónimos:

Metil-p-hidroxibenzoato, p-hidroxibenzoato de metilo, p-hidroxibenzoato de metilo, metilparabeno, éster metílico del ácido p-hidroxibenzoico, metil-4-hidroxibenzoato, nipajin.

7.2.1.3 Propiedades fisicoquímicas:

- Fórmula química: $C_8H_8O_3$.
- Peso molecular: 152.15g/mol.
- Punto de fusión: 400ºK (127°C).
- Punto de ebullición: 48ºK (275°C).

7.2.1.4 Solubilidad:

En agua: 2.5g/l (25°C), alcohol, éter.

7.2.1.5 Usos:

Agente antifúngico empleado en una variedad de alimentos y productos cosméticos, ampliamente usado en la industria farmacéutica como preservante.

7.2.1.6 Incompatibilidades:

Oxidantes y ácidos fuertes. (47)

7.2.2 Propilparaben:

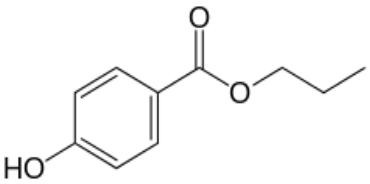


Figura Nº33: Estructura del Propilparaben. (48)

7.2.2.1 Descripción:

Sólido cristalino, blanco, inodoro, olor característico.

7.2.2.2 Sinónimos:

Propil-p-hidroxibenzoato, propil-4-hidroxibenzoato, éster del ácido p-hidroxibenzoico, hidroxibenzoato de propilo, nipasol.

7.2.2.3 Propiedades fisicoquímicas:

- Fórmula química: $C_{10}H_{12}O_3$.
- Peso molecular: 108.2g/mol.
- Punto de fusión: 96ºC.
- Densidad: 1.0630g/cm^3.

7.2.2.4 Solubilidad:

Ligeramente soluble en agua (1 gramo en 2 litros), soluble en aceites, ligeramente soluble en agua hirviendo, soluble en alcohol.

7.2.2.5 Usos:

Conservador para cosméticos en combinación con metilparaben, formulaciones farmacéuticas parentales protegiendo contra una amplia gama de microorganismos haciendo que los productos tengan una vida útil larga.

7.2.2.6 Incompatibilidades:

Oxidantes y ácidos fuertes. (49)

7.2.3 Carbopol 940:

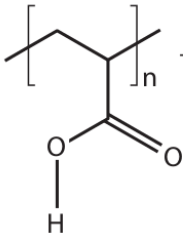


Figura Nº34: Estructura del carbopol (50)

7.2.3.1 Descripción:

Polvo blanco, esponjoso, higroscópico, alto peso molecular de carácter aniónico.

7.2.3.2 Sinónimos:

Carbomer, carbómero, carboxipolimetileno, carpoleno, polímero carboxivinílico, ácido poliacrílico.

7.2.3.3 Propiedades fisicoquímicas:

- Fórmula molecular: $[-CH_2-CH\ (COOH)-]_n$.
- Peso molecular: Se ha estimado en 104.400 para el Carbopol 940.
- Punto de fusión: 260ºC.

7.2.3.4 Solubilidad:

En agua, alcohol y glicerina.

7.2.3.5 Usos:

Agente emulsificante, viscosizante, suspensor y gelificante en soluciones, suspensiones, cremas, geles, y pomadas. Como emulsificante se emplea en la elaboración de emulsiones O/W para uso tópico.

7.2.3.6 Incompatibilidades:

Sustancias catiónicas como sulfato de neomicina, clorhidrato de procaína, difenhidramina, polímeros catiónicos, electrolitos, iones metálicos como sodio, calcio, aluminio, zinc, magnesio y hierro, ácidos o bases fuertes, pH menor a 6 ó mayor a 9, fenol, resorcina y radiaciones UV. (51)

7.2.4 Trietanolamina:

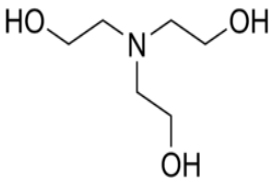


Figura Nº35: Estructura de trietanolamina (52)

7.2.4.1 Descripción:

Líquido viscoso, incoloro o débilmente amarillo pálido, higroscópico, formado principalmente por una amina terciaria y tres grupos hidróxilos.

7.2.4.2 Sinónimos:

TEA, Trolamina, hidroxietilamina, 2,2',2''-Nitrilotrietanol.

7.2.4.3 Propiedades fisicoquímicas:

- Fórmula química: $C_6H_{15}O_3$.
- Peso molecular: 149.19g/mol.
- Punto de fusión: 293.65ºK (21°C).
- Punto de ebullición: 608.55°K (335°C).
- Densidad: 1.120-1.128g/ml.
- Índice de refracción: 1.4852.

7.2.4.4 Solubilidad:

Miscible en agua y etanol, soluble en cloruro de metileno.

7.2.4.5 Usos:

Usado como emulgente, emulsificante y neutralizante.

7.2.4.6 Incompatibilidades:

Dihidroxiacetona, sales de cobre, metales pesados y ácidos. (53)

7.2.5 Propilenglicol:

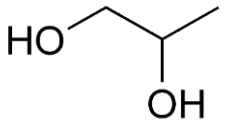


Figura Nº36: Estructura del propilenglicol. (54)

7.2.5.1 Descripción:

Líquido viscoso, límpido, incoloro, higroscópico.

7.2.5.2 Sinónimos:

2-Propanodiol, 2-Hidroxipropanol, metiletilenglicol, etilglicol.

7.2.5.3 Propiedades fisicoquímicas:

- Fórmula química: $C_3H_8O_2$.
- Peso molecular: 76.10g/mol.
- Punto de fusión: - 59ºC.
- Punto de ebullición: 185-189ºC.
- Densidad: 1.038g/ml.
- Índice de refracción: 1.4324 (20ºC).

7.2.5.4 Solubilidad:

Miscible con agua y con etanol al 96%.

7.2.5.5 Usos:

Disolvente, humectante con propiedades bactericidas y fungicidas. A concentraciones elevadas actúa como conservante. Vehículo para principios activos inestables en soluciones acuosas.

7.2.5.6 Incompatibilidades:

Oxidantes como permanganato de potasio. (55)

8. Gel de referencia:

8.1 Estructura de Ketanserina 2% gel:

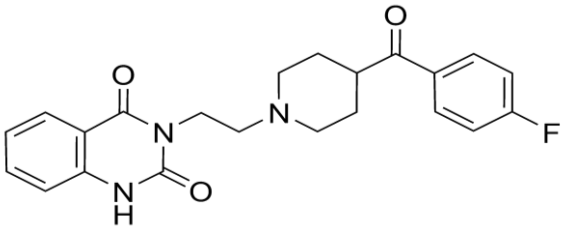


Figura Nº37: Estructura de Ketanserina (82)

8.2 Composición:

Cada 100 gramos contiene:

Ketanserina…….. 2g

8.3 Clasificación terapéutica: Antagonista selectivo de receptores S_2 de serotonina.

8.4 Farmacología: Ketanserina es un antagonista de los receptores S_2 de serotonina, desprovisto de actividad agonista, posee diversas propiedades como disminuir la resistencia vascular periférica, disminuir la agregación plaquetaria, mejorar los parámetros hemorreológicos (disminuye la hiperviscosidad sanguínea y devuelve la elasticidad al eritrocito) y mejora el perfil de lípidos. Cuando se aplica tópicamente, la ketanserina muestra efectos benéficos sobre la cicatrización, ya que interviene en sus tres niveles: inflamación, granulación y epitelización.

8.5 Indicaciones: Ketanserina 2% gel está indicado como auxiliar en el tratamiento de condiciones como úlceras dérmicas, heridas traumáticas como úlceras de decúbito, preparación de tejido para injerto y colgajos, quemaduras no infectadas y regeneración del cérvix uterino.

8.6 Contraindicaciones: Hipersensibilidad a los componentes de la fórmula, embarazo y lactancia.

8.7 Dosis: Se deberá aplicar una capa delgada y homogénea de ketanserina 2% gel, dos veces al día.

8.8 Presentación: Ketanserina 2% gel: caja con tubo conteniendo 30g de gel. (56)

9. Experimentación animal:

Es una actividad que tiene la misión de evidenciar o aclarar fenómenos biológicos sobre especies animales. Un experimento empieza cuando inicia la preparación del animal y termina al finalizar las observaciones, aportando numerosos beneficios como la contribución a incrementar la esperanza de vida del hombre, producción y validación de vacunas, estudio de las enfermedades, entre otros. El empleo de animales homogéneos asegura la fiabilidad de la respuesta esperada, como la homogeneidad somática (igualdad de sexo, peso, edad), homogeneidad genética (tasa de consanguinidad elevada) y homogeneidad sanitaria (evitar estados patológicos no deseados). (57)

Tabla Nº1: Animales de experimentación más usados.

Carnívoros, roedores y lagomorfos			
Especie	**Nombre común**	**Características Generales**	**Usos**
Canis familiaris	Perro	Buen comportamiento.	Toxicología, cirugía, medicina y veterinaria.
Felis cattus	Gato	Se usan cruces entre abisinio y europeo.	Neurología, gastroenterología, oncología, virología, parasitología, medicina y veterinaria.
Mus musculus	Ratón	Susceptibles a desarrollar tumores, escasa longevidad.	Toxicología, inmunología, oncología, geriatría.
Rattus norvegicus	Rata	Longevidad de 2 a 3 años.	Toxicología, farmacología, geriatría.
Cavia porcellus	Cobaya	Alta susceptibilidad a patologías, favorable anatomía de oído medio.	Inmunología, dietética.
Cricetulus griseus y Mesocricetus auratus	Hámster chino y dorado	Elevada incidencia de diabetes.	Odontología, nutrición, teratología, genética, citogénesis, citología e histología.
Meriones unguiculatus	Jerbo	Hospedador de diversos microorganismos y parásitos.	Nutrición, medicina comparada.
Oryctolagus cuniculus	Conejo	Sistema nervioso inestable, fragilidad vascular y ósea.	Inmunología, reproducción, teratología, farmacología.

9.1 Modelos experimentales en roedores para evaluar la acción cicatrizante de medicamentos:

Existen varios modelos farmacológicos experimentales que permiten evaluar la acción cicatrizante de un principio activo, profundizando en los eventos específicos de la cicatrización.

9.1.1 Promoción de cicatrización por segunda intención en roedores (ratón, conejo, rata, hámster, cobayos):

Se anestesian los roedores y se depila el área dorsal, donde se realizan 6 heridas asépticas de 6mm de diámetro, con un biótomo cutáneo. Se determina el área superficial midiendo los bordes de la herida en dirección craneocaudal y lateral media. El análisis de varianza se realiza mediante la prueba de Friedman para verificar la existencia de diferencias estadísticas entre los grupos.

9.1.2 Modelo para predecir la distribución de un medicamento aplicado tópicamente en heridas en ratas:

Se anestesian vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (60mg/kg). Se realiza una herida 15x15mm en el lado izquierdo del abdomen, 2cm bajo la columna espinal. La escisión del tejido se realiza hasta el tejido subcutáneo con tijeras y pinzas de disección. Con este modelo se determina y compara la absorción y distribución de los solutos en el sitio de granulación y si los perfiles de estos parámetros cambian entre períodos de administraciones tempranas (2 días), medias (7 días) y tardías (12 días) al cierre de las heridas.

9.2 Métodos para inducir eutanasia a los animales de experimentación:

9.2.1 Métodos físicos: Produce inmediata pérdida de consciencia a través del trauma cerebral. Son estéticamente menos agradables, producen menos angustia en el animal. Dentro de estos se encuentran el disparo, concusión (aturdimiento por golpe o stunning), aturdimiento eléctrico, dislocación cervical y decapitación.

9.2.2 Métodos químicos: Se utilizan anestésicos en sobredosis como agentes eutanásicos. Entre algunos están el dióxido de carbono, monóxido de carbono y anestésicos inhalatorios volátiles. (58)

9.3 Bioensayos para la evaluación de actividad cicatrizante *in vivo*:

9.3.1 Examen anatomopatológico:

Terminado el ensayo los animales son sacrificados por eutanasia. Luego se procede a extraer la piel, observando características macroscópicas como color, peso y medidas de ancho, profundidad y longitud de cicatriz.

9.3.2 Examen histopatológico:

Se realizan cortes histológicos de la piel observando microscópicamente para determinar la regeneración celular. Las muestras son deshidratadas y diafanizadas en alcohol-xilol, se incluyen en bloques de parafina caliente que después del endurecimiento se llevan a microtomía, luego se colocan con hematoxilina-eosina (HE). El análisis toma como referencia las fases inflamatorias, proliferación y remodelación, las cuales integran el proceso de cicatrización. (58)

10. Animal de experimentación:

Figura Nº38: Hámster Sirio Dorado (59)

10.1 Hámster sirio dorado:

10.1.1 Taxonomía:

- **Reino:** *Animalia.*
- **Filo:** *Chordata.*
- **Subfilo:** *Vertebrata.*
- **Clase:** *Mammalia.*
- **Orden:** *Rodentia.*
- **Suborden:** *Myomorpha.*
- **Superfamilia:** *Muroidea.*
- **Familia:** *Cricetidae.*
- **Subfamilia:** *Cricetinae.*
- **Género:** *Mesocricetus*.
- **Especie:** *M. auratus.*

10.1.2 Descripción: Recibe su nombre del lugar de origen (Israel y Siria). También conocido como hámster dorado, teddy bear o hámster común, es la especie de hámster más popular como mascota.

Llega a medir entre 12-18cm de longitud. Su peso oscila entre 150-180g en la hembra y 120-170g en el macho. Son animales robustos con grandes ojos negros o rojos, orejas en forma de tulipán y cola alrededor de 1cm de longitud. El color original del hámster sirio es dorado con marcas negras en los dos tercios superiores del cuerpo. La piel del vientre es de color blanco con una capa gris. También poseen destellos negros en los pómulos y las bolsas de las mejillas (abazones) que pueden llevar una gran cantidad de alimentos que almacenan en sus madrigueras. Los hámsteres son animales nocturnos, por lo que desarrollan la mayoría de su actividad por la noche, durmiendo durante el día.

Su esperanza de vida gira en torno a dos o tres años. Vive solo en la naturaleza y se siente mucho más feliz cuando está solo en cautiverio. No deben mantenerse en pares o grupos, debido a que pueden ser agresivos y lastimarse entre sí.

10.1.3 Anatomía general del hámster:

10.1.3.1 Vista: No tienen buena vista. A más de un metro la visión no es nítida y solo distinguen sombras. Tampoco distinguen colores y ven todo en blanco y negro. Presentan ojos grandes, redondos y protuberantes, característica que les proporciona una visión de casi 360º. Otro factor que les impide tener un mayor ángulo visual es la colocación lateral de los ojos.

10.1.3.2 Oído: Poseen oídos muy desarrollados. El gran tamaño de sus orejas les permite oír el menor ruido, incluso dentro del campo de los ultrasonidos. En la oscuridad de la madriguera, este sentido también tiene una importancia fundamental debido a que gran parte de las relaciones entre la madre y los bebés se producen a través del sonido. Los pequeños emiten un leve pitido mediante el cual comunican a la madre sus necesidades. (60)

10.1.3.3 Olfato: El olfato es el sentido más desarrollado. Sus vidas están condicionadas por los olores. Se reconocen por el olor y reconocen el lugar donde viven siempre gracias al olfato. Los hámsteres que pertenecen a una misma camada y que crecen juntos tienen el llamado olor de grupo y se reconocen y aceptan bien. Si un animal se aleja del grupo durante cierto tiempo, este perderá el olor característico y ya no tendrá el derecho de pertenecer al grupo. En tal caso, si se le introduce en la jaula es recibido como un extraño y, por consiguiente, es atacado.

10.1.3.4 Tacto: Poseen un tacto bien desarrollado. En su hocico, especialmente alrededor de la nariz, tienen unos largos bigotes que sirven para medir los orificios del suelo antes de introducirse en ellos. Algunos de estos pelos se localizan también en la cabeza, orejas, cuerpo y patas.

10.1.4 Ventajas de su uso como animal de laboratorio:

- Bajo costo de manutención.
- Cepa definida.
- Fácil cuidado y mantenimiento por su pequeño tamaño.
- Facilidad de manipulación.
- Eficiencia reproductiva.
- Diversidad de características específicas que sirven como modelo. (60)

11. Control de calidad:

11.1 Control de calidad de droga cruda:

11.1.1 Comprobación de requisitos macromorfológicos: Observar forma, dimensión, pilosidad, nerviación, grosor y dureza de la planta entera o parte de la misma, tipo, sección, forma y disposición del tallo, nerviación, pelos y textura de las hojas, cáliz, corola, estambres y carpelos de las flores, tipo, forma y dimensiones del fruto, tamaño, color y forma de las semillas, color, estriaciones y arrugas de la corteza, zonas de crecimiento, vasos y radios medulares del leño, forma, aspecto y consistencia de órganos subterráneos.

11.1.2 Determinación de requisitos micromorfológicos: Observar al microscopio elementos celulares como pelos, vasos, esclereidas, estomas, cristales y granos de almidón. (61) (62) (63)

11.1.3 Determinación de hojas ennegrecidas: Pesar 3-5g de muestra y separar las hojas ennegrecidas. Expresión de resultados: He: $(M_2/M_1)*100$. He: Porcentaje de hojas ennegrecidas; M_2: Masa de hojas ennegrecidas (g); M_1: Masa inicial de la muestra de ensayo (g).

11.1.4 Determinación de flores oscurecidas: Pesar 3-5g de muestra, separar manualmente las flores oscurecidas. Expresión de resultados: Fo: $(M_2/M_1)*100$. Fo: Porcentaje de hojas oscurecidas; M_2: Masa de flores oscurecidas (g); M_1: Masa inicial de la muestra de ensayo (g).

11.1.5 Determinación de otras partes de la propia planta: Pesar 3-5g de muestra, separar manualmente otras partes de la propia planta. Expresión de los resultados: Pp: $(M_2/M_1)*100$. Pp: Porcentaje de otras partes de la propia planta; M_2: Masa de otras partes de la propia planta (g); M_1: Masa inicial de la muestra de ensayo (g).

11.1.6 Materia orgánica extraña: Pesar 3-5g de muestra, separar manualmente la materia orgánica extraña. Expresión de los resultados: Mo: $(M_2/M_1)*100$. Mo: Porcentaje de materia orgánica extraña; M_2: Masa de materia orgánica extraña (g); M_1: Masa inicial de la muestra de ensayo (g).

11.1.7 Materia inorgánica extraña: Pesar 3-5g de muestra, separar todas las partículas de tierra, arena y piedras pequeñas. Expresión de los resultados: Mi: $(M_2/M_1)*100$. Mi: Porcentaje de materia inorgánica extraña; M_2: Masa de materia inorgánica extraña (g); M_1: Masa inicial de la muestra de ensayo (g).

11.1.8 Determinación de cenizas: Representa el contenido de sales minerales o materia inorgánica de la droga. Dan una idea del contenido en materia mineral de la planta, que suele ser alrededor del 5%. Incluye:

11.1.8.1 Cenizas totales: Incinerar 2-3g de la droga en un crisol a una temperatura que no exceda 450ºC, hasta quedar blanco (indicando ausencia de carbón), enfriar en un desecador y pesar hasta masa constante. Expresión de los resultados: C: $(M_2-M/M_1-M)*100$. C: Porcentaje de cenizas totales; M: Masa del crisol vacío (g); M_1: Masa del crisol con la porción de ensayo (g); M_2: Masa del crisol con la ceniza (g). (61) (62) (63)

11.1.8.2 Cenizas solubles en agua: Al crisol que contiene las cenizas totales, adicionar 15-25ml de agua, mantener en ebullición durante 5 minutos. Enfriar la materia insoluble en un papel filtro libre de cenizas. Lavar con agua caliente e incinerar en un crisol durante 2 horas a una temperatura que no exceda los 450ºC. Pesar hasta peso constante. Expresión de los resultados: Ca: (M_2-Ma/M_1-M)*100. Ca: Porcentaje de cenizas solubles en agua; M_2: Masa del crisol con las cenizas totales (g); Ma: Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g); M_1: Masa del crisol con la muestra de ensayo (g); M: Masa del crisol vacío.

11.1.8.3 Cenizas insolubles en ácido clorhídrico: Al crisol que contiene las cenizas totales, adicionar 2-3ml de HCL al 10%, cubrir con un vidrio reloj, hervir durante 5-10 minutos. Enjuagar el vidrio reloj con 5ml de agua caliente y adicionar al crisol. Recoger el material insoluble en un papel filtro y lavar con agua caliente. Desecar el residuo y transferir al crisol inicial, que se incinera 2 horas. Pesar hasta peso constante. Expresión de los resultados: B: (M_2-M/M_1-M)*100. B: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico; M: Masa del crisol con la porción de ensayos (g); M_1: Masa de crisol con muestra (g); M_2: Masa del crisol con la ceniza (g).

11.1.9 Contenido de humedad: Pesar 2g de droga seca pulverizada, transferir a una cápsula de porcelana previamente tarada, poner en estufa a 105-110ºC. Pesar hasta peso constante. Expresión de los resultados: %H: (M_2-M_1/M_2-M)*100. %H: Porcentaje de humedad; M_2: Masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g); M_1: Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g); M: Masa de la cápsula vacía. (61) (62) (63)

11.2 Control de calidad de extracto fluido:

11.2.1 Descripción organoléptica: Olor: usar una tira de papel filtro de 1x10cm, introducir un extremo en la muestra de ensayo. Color: usar un tubo de ensayo lleno con 2cm de la muestra. Sabor: colocar una pequeña cantidad de muestra en el borde de la palma.

11.2.2 Determinación del pH: Calibrar pH-metro con tampón de ftalato pH 4 y fosfato pH 6 a 9. Introducir electrodos en el extracto y medir el pH. (64) (65)

11.2.3 Determinación del índice de refracción: Calibrar refractómetro determinando el índice de refracción del agua, ajustar equipo a la zona del espectro visible (380-720nm). Colocar una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, enfocar la luz por medio del espejo. Proceder de la misma forma que con el agua.

11.2.4 Determinación de la densidad relativa: Pesar picnómetro vacío y peso del agua contenida en el picnómetro. Sustraer el peso del picnómetro vacío. Llenar el picnómetro con la sustancia a ensayar. Al peso obtenido sustraer peso del picnómetro vacío. Expresión de los resultados: ρ: (P_2-P_1/P_3-P_1). ρ: Densidad relativa; P_1: Peso del picnómetro vacío (g); P_2: Peso del picnómetro con muestra (g); P_3: Peso del picnómetro con agua (g).

11.2.5 Determinación de sólidos totales: Transferir a una cápsula previamente tarada 2-5ml de muestra y llevar a baño maría completar la evaporación en estufa a 105ºC por 3 horas, pesar la cápsula y repetir el proceso hasta peso constante. Expresión de los resultados: St: (Pr-P/V)*100. St: Porcentaje de sólidos totales; Pr: Masa de la cápsula más el residuo (g); P: Masa de la cápsula vacía (g); V: Volumen de la porción de ensayo. (64) (65)

Tabla N°2: Identificación de principios activos.

Pruebas colorimétricas	
Flavonoides	Ensayo de Shinoda: Diluir alícuota del extracto en alcohol con 1ml de HCL concentrado y un trozo de cinta de magnesio metálico. Esperar 5min, añadir 1ml de alcohol isoamílico, mezclar las fases y dejar reposar hasta separación. Es positivo, si el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja o rojo.
Compuestos fenólicos	Ensayo de cloruro férrico: Adicionar tres gotas de $FeCl_3$ al 5% y acetato de sodio a una alícuota del extracto. Es positivo, si hay coloración rojo-vino para compuestos fenólicos en general; coloración verde intensa para taninos tipo pirocatecólicos; coloración azul para taninos tipo pirogalotánicos.

Saponinas	Ensayo de la espuma: Tomar 1ml de muestra en un tubo de ensayo, añadir 9ml de agua caliente. Agitar por 30 segundos y dejar en reposo durante 15 minutos. La proporción de saponinas se mide en acuerdo a la altura de la espuma sobrenadante: Altura de menos de 5mm: no se detectan saponinas; altura de 5-9mm: contenido bajo; altura de 10-14mm: contenido moderado; altura mayor de 15mm: alto contenido.
Resinas	Ensayo de resinas: Adicionar 2ml de la solución alcohólica, 10ml de agua destilada. Es positivo, si hay precipitado.
Azúcares reductores	Ensayo de Fehling: Adicionar 2ml del reactivo a la alícuota acuosa del extracto y calentar en baño maría 5-10min. Es positivo, si hay color o precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma: Solución A: Pesar 35g de sulfato cúprico y disolver con agua hasta 1L. Solución B: Pesar 150g de tartrato de sodio-potasio y 40g de NaOH, disolver con agua hasta 1L. Mezclar igual volumen al usarlas.
Triterpenos y/o esteroides, glicósidos terpénico	Ensayo de Liebermann-Burchard: Adicionar 1ml de anhídrido acético y 1ml de cloroformo a la alícuota no acuosa y mezclar. Adicionar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Es positivo, si hay coloración rosado-azul, verde intenso, verde oscuro.
Quinonas y/o antraquinonas	Ensayo de Borntrager: Adicionar 1ml de NaOH y 1ml de cloroformo a la alícuota no acuosa. Mezclar y dejar en reposo hasta separación de fases. Es positivo, si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado (++) o rojo (+++).

Alcaloides	Ensayo de Dragendorff: Añadir 1 gota de HCL concentrado a la alícuota acuosa del extracto, añadir 3 gotas del reactivo. Es positivo, si hay opalescencia (+), turbidez definida (++), precipitado (+++).
	Ensayo de Wagner: Igual que el caso anterior, añadir 2-3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma.
Lactonas y Cumarinas	Ensayo de Baljet: A la alícuota acuosa del extracto adicionar 1 ml del reactivo. Es positivo, si hay coloración roja (++) o precipitado rojo (+++).
Mucílagos	Azul de cresil al 1%: Colocar los cortes en porta objeto, agregar una gota del reactivo. Los mucilagos dan coloración azul. (61)

11.3 Control de calidad de las formulaciones:

11.3.1 Determinación organoléptica: Olor: usar una tira de papel filtro de 1x10cm, introducir un extremo en la muestra de ensayo. Llenar tres cuartas partes de un tubo de ensayo con la muestra para determinar color. Analizar visualmente el aspecto.

11.3.2 Determinación de la presencia de grumos: Tomar una pequeña cantidad del gel con los dedos y aplicar en el dorso de la mano observando si hay presencia o ausencia de grumos.

11.3.3 Determinación de untuosidad al tacto: Tomar una pequeña cantidad del gel con los dedos y aplicar en el dorso de la mano y observar si hay presencia o ausencia de grasa.

11.3.4 Determinación de la extensibilidad: Usar dos placas de cristal (20x20cm) entre las cuales se coloca, 2-4g del preparado. Colocar la placa inferior sobre una hoja milimetrada. Trazar diagonales. Colocar la muestra en el punto de intersección. Colocar pesos sucesivos (100, 200, 400, 600, 800 y 1000g). Representar la extensibilidad en mm^2 frente a los pesos empleados. Expresión de los resultados: A_E: $\pi (rp)^2$; A_E) área de extensibilidad; rp: radio promedio de las mediciones (mm); π: constante (3.1416).

11.3.5 Determinación del pH: Calibrar pH-metro con tampón de ftalato pH 4 y fosfato pH 6 a 9. Introducir electrodos y medir el pH.

11.3.6 Determinación de la viscosidad: Usar viscosímetro rotatorio, calibrar, elegir husos y recipiente adecuados, introducir la muestra y medir viscosidad.

11.4 Control de calidad del producto terminado:

11.4.1 Características organolépticas: Olor: usar tira de papel filtro de 1x10cm, introducir un extremo en la muestra de ensayo. Llenar tres cuartas partes de un tubo de ensayo con la muestra para determinar color. Analizar visualmente el aspecto.

11.4.2 Llenado mínimo: Seleccionar 10 envases llenos, quitar etiquetas, pesar individualmente, extraer contenido de cada envase, secar y volver a pesar cada uno de los envases vacíos con sus partes correspondientes. La diferencia entre los dos pesos es el peso neto del contenido del envase. El contenido promedio de 10 envases no es menor que la cantidad declarada y el contenido de cada envase no es menos de 90% cuando la cantidad declarada es de 60g (ml) o menos, o no es menos de 95% cuando la cantidad declarada es de más de 60g (ml) pero no más de 150g (ml). Si no se cumple con este requisito repetir con 20 envases. (65) (66)

11.4.3 pH: Calibrar pH-metro con tampón de ftalato pH 4 y fosfato pH 6 a 9. Introducir electrodos a la muestra y medir el pH.

11.4.4 Determinación de la extensibilidad: Usar dos placas de cristal (20x20cm) entre las cuales se coloca, 2-4g del preparado. Colocar la placa inferior sobre una hoja milimetrada. Trazar diagonales. Colocar la muestra en el punto de intersección. Colocar pesos sucesivos (100, 200, 400, 600, 800 y 1000g). Representar la extensibilidad en mm^2 frente a los pesos empleados. Expresión de los resultados: A_E: $\pi\ (rp)^2$; A_E) área de extensibilidad; rp: radio promedio de las mediciones (mm); π: constante (3.1416).

11.4.5 Determinación de la viscosidad: Usar viscosímetro rotatorio, calibrar, elegir husos y recipiente adecuados, introducir la muestra y medir viscosidad. (65) (66) (67)

HIPÓTESIS:

Hipótesis nula (H_0): $\mu_1 = \mu_2$

El gel diseñado y formulado no tiene mejor efectividad cicatrizante en comparación con Ketanserina gel en heridas inducidas en hámsteres sirio dorado.

Hipótesis alternativa (H_1): $\mu_1 \neq \mu_2$

El gel diseñado y formulado tiene mejor efectividad cicatrizante en comparación con ketanserina gel en heridas inducidas en hámsteres sirio dorado.

MATERIAL Y MÉTODO:

1. Diseño Metodológico:

Tipo de estudio:

Experimental puro de corte transversal, descriptivo y prospectivo.

Población de estudio:

Constituida por veinticuatro plantas medicinales existentes a nivel nacional con actividad cicatrizante validada: *Peperomia scutellaefolia*, *Dracontium croatii*, *Aloe vera*, *Linum usitatissimum*, *Equisetum arvence*, *Schinus molle*, *Caesalpinia spinosa*, *Juglans regia*, *Juglans neotropica*, *Thymus vulgaris*, *Urtica dioica*, *Amaranthus quitensis*, *Senecio salignus*, *Solanum nigrum*, *Chenopodium hircinum*, *Allium cepa*, *Rosmarinus officinales*, *Piper aduncum*, *Pinus caribaea, Saccharum officinarum*, *Plantago major*, *Calendula officinalis*, *Persea americana* y *Dorstenia drakena*.

Criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

- Plantas medicinales existentes y accesibles a nivel nacional, con actividad cicatrizante validada en heridas inducidas en roedores.
- Hámsteres machos sirio dorado de 6 meses de edad, con pesos comprendidos entre 100-150g.

Criterios de exclusión:

- Plantas medicinales inexistentes e inaccesibles a nivel nacional, sin actividad cicatrizante validada en heridas inducidas en roedores.
- Hámsteres hembras sirio dorado menor o mayor a 6 meses de edad, con pesos menores a 100g y mayores a 150g.

Muestra de estudio:

- Tres extractos fluidos obtenidos de las especies medicinales *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis*.

Unidad de análisis:

- Gel al 10% de extractos.
- Gel al 15% de extractos.
- Gel al 20% de extractos.

Reactivo biológico:

- Hámsteres *Mesocricetus auratus* del Bioterio de la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria, UNAN-León.

Variables de estudio:

- Peso.
- Concentración.
- Temperatura.
- Tiempo.
- pH.
- Regeneración epitelial.

Cruce de variables:

- Peso vs Tiempo.
- Concentración vs Temperatura.
- Concentración vs Tiempo.
- Concentración vs pH.
- Regeneración epitelial vs Tiempo.

Área de estudio:

- Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Farmacia Industrial, Facultad de Ciencias Químicas, Complejo Docente de la Salud (Campus Médico).
- Laboratorio de Análisis Farmacéutico, Departamento de Farmacia Industrial, Facultad de Ciencias Químicas, Complejo Docente de la Salud (Campus Médico).
- Bioterio de la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria, UNAN-León.
- Laboratorio de Biopatología, Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria, UNAN-León.

Plan de análisis y procesamiento de resultados:

La información sobre la efectividad cicatrizante de los geles se obtuvo a partir de una ficha de recolección de información, cuyos resultados fueron graficados y tabulados en el paquete informático Microsoft Excel v16.0 y levantado de texto en Microsoft Word v16.0, creando una base de datos digital para posterior análisis.

Los resultados obtenidos fueron presentados mediante gráficos basados en el plano cartesiano, representando en el eje de las abscisas las variables independientes y en el eje de las ordenadas las variables dependientes.

Los resultados sobre longitud, ancho, profundidad de la herida, así como producción y desprendimiento de la costra se presentaron en gráficos de línea; la reducción del tiempo de cicatrización fue presentada mediante gráfico de barra; el tiempo de cicatrización de cada tratamiento utilizado fue presentado mediante gráfico de línea, determinando si existía o no diferencia significativa entre ellos mediante un análisis de varianza (ANOVA de un factor) para posterior comprobación de las hipótesis de investigación.

Tabla Nº3: Operacionalización de variables:

Variable	Tipo de variable	Escala	Definición conceptual	Indicador	Escala de medición
Peso	Dependiente Cuantitativa	Continua	Medida de la fuerza gravitatoria que actúa sobre un objeto.	0-50	Grs
Concentración	Dependiente Cuantitativa	Continua	Medida de la cantidad o proporción de un soluto en solución.	Peso/Volumen	µg/ml:
Temperatura	Independiente Cuantitativa	Discreta	Magnitud física que refleja la cantidad de calor.	32, 60, 90, 106	ºC:
Tiempo	Independiente Cuantitativa	Discreta	Magnitud física que mide la duración de acontecimientos y determina un periodo.	Días	Min: Hrs:
pH	Independiente Cuantitativa	Continua	Coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución.	2, 4, 5, 7, 10	$[H_3O^+]$:
Regeneración epitelial	Dependiente Cuantitativa	Continua	Reactivación del desarrollo celular para restaurar tejidos dañados.	Examen macroscópico Examen microscópico	mm: Días: ENV:

µg/ml: microgramo/mililitro; ºC: grados centígrados; Min: minutos; pH: potencial de hidrógeno; $[H_3O^+]$: concentración de iones hidronio; Cm: centímetro; ENV: valoración numérica visual.

2. Parte experimental:

Documentación bibliográfica:

La presente investigación se sustentó científicamente mediante revisión de fuentes primarias de información como libros digitales, tesis, revistas, artículos científicos, documentos oficiales e investigaciones de instituciones públicas y normas técnicas como el RTCA 11.03.56:09 de productos naturales medicinales para uso humano, verificación de la calidad y la Norma Ramal Ecuatoriana del control de calidad de fitofármacos. Así como la revisión de fuentes secundarias como libros, artículos y resúmenes de investigaciones anteriores.

Obtención de especies medicinales:

Aloe vera: La droga cruda se obtuvo del vivero la Esperanza, Carretera Poneloya, León-Nicaragua, utilizando las hojas.

Plantago major y *Calendula officinalis*: La droga vegetal fue obtenida del Laboratorio Medicina Verde, Villa Venezuela, Managua-Nicaragua, utilizando las hojas para el Plantago major y flores y hojas para Calendula officinalis.

Control de calidad de especies medicinales:

- **Determinación microscópica:**

1. Conectar microscopio de luz AMERICAN OPTICAL ONEFIFTY.
2. Colocar muestra en la lámina portaobjeto y posteriormente cubrir con la lámina cubreobjeto.
3. Ubicar la muestra en la platina y sujetarla con las pinzas.
4. Enfocar muestra con lente objetivo de menor aumento.
5. Subir platina con tornillo macrométrico hasta que la imagen sea visible, moviendo el tornillo micrométrico hasta obtener una imagen nítida.
6. Ajustar el revólver hasta obtener el lente objetivo de interés (40X).
7. Anotar resultados.

Determinación de sólidos del *Aloe vera* a 40 y 80°C:

La determinación de sólidos (triplicado) se realizó utilizando un horno de convección por gravedad, marca PRECISION SCIENTIFIC GROUN.

Obtención del gel (40 y 80°C):

1. Cortar 3 hojas midiendo largo y ancho superior e inferior.
2. Obtener gel con la técnica de fileteado utilizando una cuchara como instrumento de extracción.
3. Pesar 50g de gel, introducir al horno sobre papel aluminio a 40 y 80°C.
4. Realizar pesaje cada hora hasta peso constante.

Determinación de la estabilidad del gel de *Aloe vera*:

- **Estabilidad en relación a la temperatura:**

Se extrajo el gel de acuerdo al procedimiento establecido en la sección de material y método referido a la obtención del extracto de *Aloe vera*. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

1. Tomar 50ml de gel, trasvasar a un beaker de 100ml.
2. Valorar contenido fenólico inicial a temperatura ambiente (32°C).
3. Calentar beakers en una cocina ISOTEMP FISHER SCIENTIFIC a 60, 90 y 106°C (ebullición) durante 20 minutos utilizando un termómetro FISHER BRAND para su verificación.
4. Valorar el contenido fenólico en cada temperatura.

- **Estabilidad en relación al tiempo:**

Se extrae el gel de acuerdo al procedimiento establecido en la sección de material y método referido a la obtención del extracto de Aloe vera. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

1. Tomar 20ml de gel, trasvasar a un beaker de 50ml.
2. Valorar contenido fenólico inicial (tiempo 0).
3. Agregar 1ml de solución de $KMnO_4$ 0.0001013N a cada gel.
4. Medir contenido fenólico cada 20 minutos hasta completar una hora.

- **Estabilidad en relación al pH:**

Se extrajo el gel de acuerdo al procedimiento establecido en la sección de material y método referido a la obtención del extracto de *Aloe vera*. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

1. Tomar 50ml de gel, trasvasar a un beaker de 100ml.
2. Medir pH y contenido fenólico inicial.
3. Agregar 6.5ml de HCL 0.1N hasta pH 2, valorando el contenido fenólico.
4. Agregar gota a gota NH_3 puro hasta pH 5, 7 y 10, midiendo en cada momento de pH el contenido fenólico.

Determinación de sólidos totales de *Plantago major* y *Calendula officinalis*:

1. Preparar 50ml de mezcla hidroalcohólica, usando diferentes relaciones droga/solvente (1:5 y 1:10) y concentraciones hidroalcohólicas (35, 50, 70%), a partir de alcohol absoluto al 98%.
2. Pesar materia prima pulverizada en una balanza analítica G TALENT SARTORIUS modelo TE214S, en cantidades suficientes para las relaciones droga/solvente.
3. Combinar paso número 1 y 2, macerar a 45°C por una hora mezclando constantemente en una cocina FISHER SCIENTIFIC PLACA CALIENTE ISOTEMP.
4. Filtrar con una manta, luego con papel filtro.
5. Tomar 2ml de cada mezcla, llevar a una cápsula de porcelana limpia y seca, calentando a 105°C hasta evaporación completa.
6. Dejar 24 horas en un desecador, activando previamente el absorbente calentado a 110°C por una hora, hasta adquirir un color azul intenso.

Expresión de resultados: %ST: $(P_2-P_1/P_3-P_1)*100$. %ST: porcentaje de sólidos totales; P_1: Peso de cápsula de porcelana vacía; P_2: Peso de cápsula después de desecador; P_3: Peso de cápsula con 2ml de muestra.

Obtención de extractos:

Aloe vera:

1. Cortar punta, base y bordes espinosos de las hojas utilizando un cuchillo.
2. Retirar epidermis superior de la hoja manualmente.
3. Raspar epidermis inferior que contiene el gel con una cuchara.
4. Someter el filete a turboextracción (2-5 minutos) utilizando una licuadora OSTER modelo 6640, hasta obtener una solución espesa homogénea.
5. Filtrar con una manta, luego con papel filtro.
6. Estabilizar mediante calentamiento y agitación constante a 45°C por 20 minutos, luego añadir ácido ascórbico 0.015%, ácido cítrico 0.01% y benzoato de sodio 0.05%, mezclar hasta solubilización completa.
7. Almacenar en un lugar fresco y protegido de la luz.

Plantago major y *Calendula officinalis*:

1. Preparar 1L de mezcla hidroalcohólica al 50%, a partir de un alcohol al 98%.
2. Pesar la materia prima pulverizada en una balanza analítica G TALENT SARTORIUS modelo TE214S, en cantidades suficientes para la relación droga/solvente 1:5.
3. Macerar a 45°C por una hora.
4. Filtrar con una manta, luego con papel filtro.
5. Almacenar en un lugar fresco y protegido de la luz.

Concentración de extracto:

Los extractos se calentaron a 45°C hasta evaporación del 50% del volumen total del extracto.

Almacenamiento:

Los extractos y licuado se almacenaron en envases plásticos protegidos de la luz a temperatura ambiente.

Control de calidad de extractos fluidos:

- **Tamizaje fitoquímico de especies medicinales:**

1. Preparar los reactivos a utilizar en las pruebas colorimétricas.
2. Tomar una alícuota de 3ml de cada extracto.
3. Adicionar reactivos.
4. Anotar resultados.

- **Parámetros organolépticos de extractos fluidos:**

Determinación de color:

1. Llenar ¾ partes de un tubo de ensayo con muestra.
2. Observar color.
3. Anotar resultados.

Determinación de olor:

1. Cortar una tira de papel filtro de 1x10cm.
2. Introducir un extremo en la muestra de ensayo.
3. Oler la tira de papel filtro humectado con extracto.
4. Anotar resultados.

Determinación de sabor:

1. Colocar una pequeña cantidad de muestra en el borde de la mano.
2. Catar sabor.
3. Anotar resultados.

Determinación de homogeneidad, presencia de partículas extrañas y separación de fases:

1. Llenar ¾ partes de un tubo de ensayo con muestra.
2. Observar con una lupa la presencia y distribución de las partículas y fases del extracto.
3. Anotar resultados.

- **Parámetros fisicoquímicos de extractos fluidos.**

Determinación de pH:

1. Ajustar pH-metro con soluciones tampón pH 4, 7 y 9.
2. Introducir electrodo limpio y seco a la muestra.
3. Realizar medición de pH.
4. Anotar resultados.

Determinación de densidad relativa:

1. Pesar picnómetro vacío (capacidad de 10ml).
2. Agregar extracto y agua (líquido de referencia) al picnómetro hasta el afore, pesar individualmente.
3. Calcular el peso de los 10ml de extracto y agua, restando el peso del picnómetro vacío al peso del picnómetro lleno con ambas sustancias.
4. Dividir el peso de los 10ml de extracto entre el peso de los 10ml de agua.
5. Anotar resultados.

Determinación de densidad absoluta:

1. Pesar picnómetro vacío con capacidad de 10ml.
2. Agregar extracto al picnómetro hasta afore, pesar.
3. Calcular el peso de los 10ml de extracto, restando el peso del picnómetro vacío al peso del picnómetro lleno con extracto.
4. Dividir el peso de los 10ml de extracto entre la capacidad volumétrica del picnómetro.
5. Anotar resultados.

- **Cuantificación de principios activos presentes en extractos fluidos:**

Determinación de polifenoles totales por espectrofotometría UV-visible referida como porcentaje de ácido gálico a 659nm:

Preparación de los patrones de referencia:

1. Preparar 100ml de una solución madre de ácido gálico, con agua destilada (1,109.25051µg/ml), luego realizar una dilución 1:10 (110.925051µg/ml).
2. Tomar de la alícuota 0.1ml, 0.2ml, 0.3ml, 0.4ml y 0.5ml, llevar a tubos de ensayo.
3. Agregar agua destilada en cantidades suficientes para 6ml de solución, 2ml de Folin-Ciocalteu y 2ml de Na_2CO_3 al 20%, obteniendo concentraciones de 1.8488µg/ml, 3.6975µg/ml, 5.5463µg/ml, 7.3950µg/ml y 9.2438µg/ml, respectivamente.

Determinación de polifenoles totales de la muestra (*Aloe vera*):

1. Realizar una dilución 1:10 del extracto, tomar 1ml, llevar a un tubo de ensayo.
2. Agregar 1ml de agua destilada, 2ml de reactivo Folin-Ciocalteu y 2ml de Na_2CO_3 al 20%, realizar lectura por triplicado a 659nm.

Determinación de taninos totales por espectrofotometría UV-visible referida como porcentaje de ácido tánico a 656nm:

Preparación de los patrones de referencia:

1. Preparar 100ml de una solución madre de ácido tánico, con agua destilada (1,092.1098µg/ml), luego realizar una dilución 1:10 (109.211098µg/ml).
2. Tomar de la alícuota 0.1ml, 0.2ml, 0.3ml, 0.4ml y 0.5ml, llevar a tubos de ensayo.
3. Agregar agua destilada en cantidades suficientes para 6ml de solución, 2ml de Folin-Ciocalteu y 2ml de Na_2CO_3 al 20%, obteniendo concentraciones de 1.820183µg/ml, 3.640366µg/ml, 5.460549µg/ml, 7.280732µg/ml y 9.100915µg/ml, respectivamente.

Determinación de taninos totales en la muestra (*Plantago major*):

1. Realizar una dilución 1:10 del extracto, tomar 1ml, llevar a un tubo de ensayo.
2. Agregar 1ml de agua destilada, 2ml de reactivo Folin-Ciocalteu y 2ml de Na_2CO_3 al 20%, realizar lectura por triplicado a 656nm.

Determinación de flavonoides totales por espectrofotometría UV-Visible expresados como porcentaje de quercetina a 661nm:

Preparación de los patrones de referencia:

1. Preparar 100ml de una solución madre de quercetina, con agua destilada (1,460.2µg/ml), luego realizar una dilución 1:10 (146.02µg/ml).
2. Tomar de la alícuota 0.1ml, 0.2ml, 0.3ml, 0.4ml y 0.5ml, llevar a tubos de ensayo.
3. Agregar agua destilada para 6ml de solución, 2ml de Folin-Ciocalteu y 2ml de Na2CO3 al 20%, obteniendo concentraciones de 2.433666µg/ml, 4.867333µg/ml, 7.301µg/ml, 9.734666µg/ml y 12.168333µg/ml, respectivamente.

Determinación de flavonoides totales en la muestra (Calendula officinalis):

1. Realizar una dilución 1:10 del extracto, tomar 1ml, llevar a un tubo de ensayo.
2. Agregar 1ml de agua destilada, 2ml de Folin-Ciocalteu y 2ml de Na2CO3 al 20%, luego realizar lectura por triplicado a 661nm.

Elaboración de gel placebo:

Técnica de preparación de gel placebo:

1. Disolver los parabenos en propilenglicol y agregar 40g de agua destilada.
2. Dispersar carbopol 940, dejar humectar 24 horas, posteriormente incorporar agua restante mezclando hasta completa homogenización.
3. Neutralizar con TEA mezclando lentamente.
4. Envasar y etiquetar.

Elaboración de gel cicatrizante:

Técnica de preparación de gel cicatrizante:

1. Disolver los parabenos en propilenglicol y agregar 40g de agua destilada.
2. Dispersar carbopol 940, dejar humectar 24 horas, posteriormente incorporar agua restante mezclando hasta completa homogenización.
3. Adicionar extractos.
4. Neutralizar con TEA mezclando lentamente.
5. Envasar y etiquetar.

Control de calidad de gel placebo y cicatrizante:

- **Parámetros organolépticos de geles:**

Determinación de color:

1. Extender una muestra de gel sobre un portaobjeto.
2. Observar color.
3. Anotar resultados.

Determinación de olor:

1. Cortar una tira de papel filtro de 1x10cm.
2. Introducir un extremo en la muestra de ensayo.
3. Oler la tira de papel filtro humectado con gel.
4. Anotar resultados.

Determinación de aspecto:

1. Colocar una muestra de gel en un recipiente transparente.
2. Inspeccionar visualmente.
3. Anotar resultados.

Determinación de untuosidad:

1. Aplicar una muestra de gel sobre el dorso de la mano.
2. Anotar resultados.

Determinación de presencia de grumos, partículas extrañas y homogeneidad:

1. Extender una muestra de gel sobre un portaobjeto.
2. Colocarlo sobre una superficie negra.
3. Inspeccionar visualmente usando una lupa.
4. Anotar resultados.

Determinación de separación de fases:

1. Colocar una muestra de gel en un recipiente transparente.
2. Inspeccionar visualmente.
3. Anotar resultados.

Determinación de textura:

1. Aplicar una muestra de gel sobre el dorso de la mano.
2. Anotar resultados.

- **Parámetros fisicoquímicos de geles.**

Determinación de extensibilidad:

1. Pesar placas de vidrio superior e inferior, posteriormente realizar pesaje de 1g de gel.
2. Realizar cuadrantes en hoja milimetrada.
3. Colocar placa inferior sobre papel milimetrado.
4. Adicionar gel y colocar placa superior, midiendo diámetro (mm) transcurrido 1 minuto.
5. Colocar pesas metálicas de forma creciente (200, 400, 600, 800g), midiendo diámetro (mm) cada minuto, respectivamente.
6. Promediar diámetros.

Determinación de pH:

1. Ajustar pH-metro con soluciones tampón pH 4, 7 y 9.
2. Introducir electrodo limpio y seco a la muestra.
3. Realizar medición de pH.
4. Promediar pH.

Determinación de viscosidad:

1. Ensamblar viscosímetro.
2. Adicionar cantidad de muestra representativa de producto final al recipiente seleccionado en base al usillo (N°3).
3. Introducir usillo al recipiente contenedor de muestra y medir la viscosidad.
4. Promediar viscosidades.

Proceso experimental:

- **Animal de experimentación:**

Se utilizó un lote de 10 hámsteres machos sirio dorado (*Mesocricetus auratus*) de 6 meses de edad, con pesos de 100-150g, provenientes del Bioterio de la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria, UNAN-León. Se dividieron en 5 grupos de 2 animales, acondicionados individualmente en cajas de polipropileno, en un macro y microambiente controlado (temperatura 20±2°C, humedad relativa 52±2%, fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad) por un período de adaptación de 10 días, alimentados en horas de la mañana (1.5g de comida/10g peso del animal y agua potable), realizando recambio de cama diariamente.

- **Inducción de la herida:**

Posterior al periodo de adaptación, se depiló la mitad del tercio inferior del lomo (área dorsal) de cada hámster previamente anestesiado, utilizando agua tibia, jabón líquido y gillette. Trascurrido 24 horas y no observarse irritación de la piel, se anestesiaron con Ketamina (50mg/kg) vía intraperitoneal, realizando heridas de 2cm de longitud y 1mm de profundidad con un bisturí.

- **Administración de tratamiento:**

Después de 3 horas de realizadas las incisiones, se administró vía tópica 0.5g de gel al 10% al grupo F1; 0.5g de gel al 15% al grupo F2; 0.5g de gel al 20% al grupo F3 y 0.5g de ketanserina gel al 2% al grupo CP (control positivo). Al grupo CN (control negativo), no se le aplicó ningún tratamiento.

Los tratamientos fueron administrados dos veces al día (mañana y tarde) durante el periodo de tiempo requerido para cicatrización completa, manteniendo los animales en condiciones normales de agua y comida.

Tabla Nº4: Tratamientos cicatrizantes.

Grupos	Dosis	Nº de Hámsteres	Sexo
F1: Hámsteres tratados con formulación N°1	0.5g BID, VT	2	Machos
F2:Hámsteres tratados con formulación N°2	0.5g BID, VT	2	Machos
F3: Hámsteres tratados con formulación N°3	0.5g BID, VT	2	Machos
CN: Hámsteres sin tratamiento (control negativo)	ST	2	Machos
CP: Hámsteres tratados con Ketanserina 2% gel (control positivo)	0.5g BID, VT	2	Machos

BID: dos veces al día; VT: vía tópica; ST: sin tratamiento.

- **Examen anatomopatológico:**

Terminado el ensayo *in vivo*, los hámsteres fueron sacrificados por sobredosis de anestesia (Ketamina 300mg/kg). Se extrajo la piel en torno a la herida observando características macroscópicas. Posteriormente se colocaron las pieles en envases individuales de formol al 10% durante 72 horas para realización de examen histopatológico.

- **Examen histopatológico:**

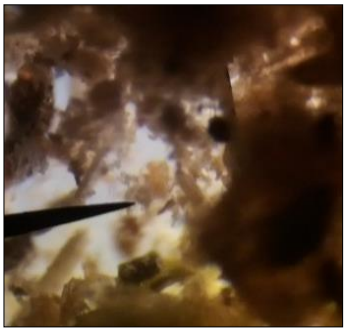
El procesamiento de las muestras se realizó por la técnica clásica de inclusión en parafina, con previa deshidratación en alcoholes crecientes, pasaje por xilol y parafina, realizando cortes con ángulo -8 y micra -3 con micrótomo rotatorio manual, posterior secado en horno a 50°C por 20min y colorados con Hematoxilina-Eosina como técnica de rutina. Finalizando con la lectura microscópica en fichas individuales.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS:

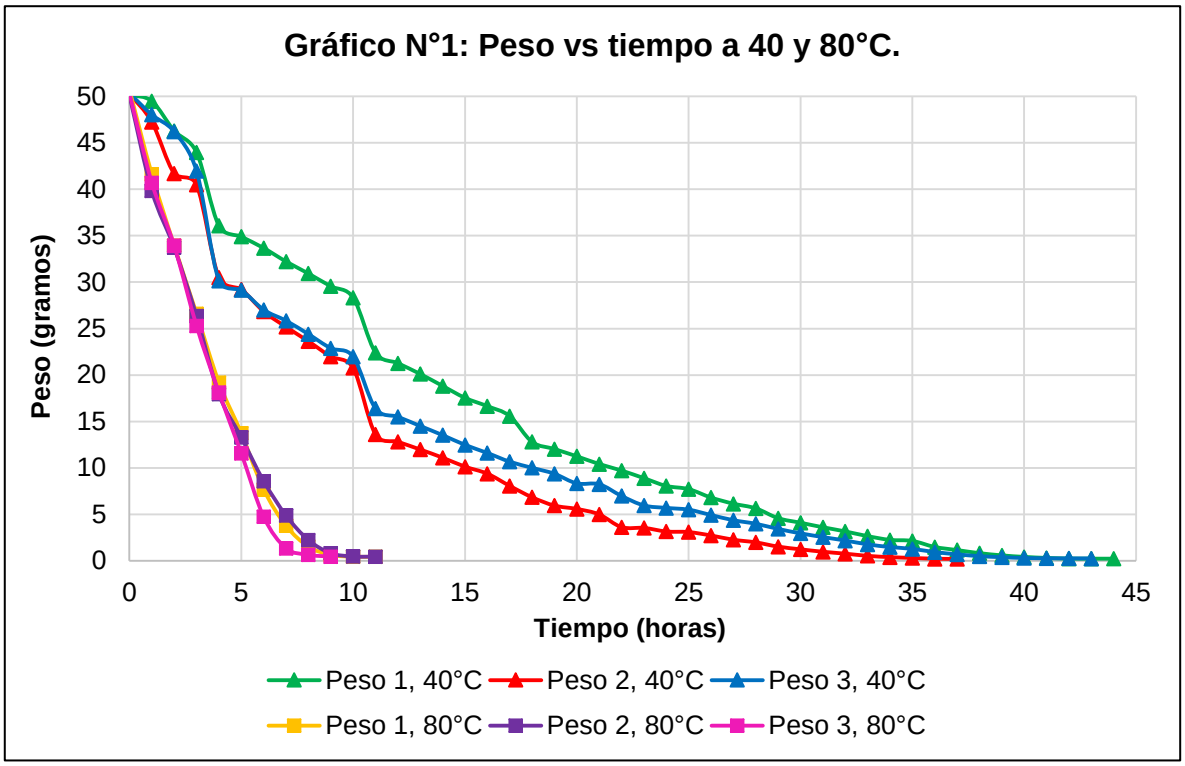
Control de calidad de las especies medicinales:

Las muestras fueron leídas utilizando un microscopio de luz AMERICAN OPTICAL ONEFIFTY a 40X.

Tabla N°5: Análisis microscópico.

Aloe vera: Se observó el mesófilo del gel, confirmando la geometría hexagonal e isodiamétrica correspondiente a la especie en estudio.	
Plantago major: Se identificó la presencia de rasgos distintivos como tricomas unicelulares característicos de las hojas.	
Calendula officinalis: Se identificó la presencia de polen distintivos de las flores de la planta utilizada. (72) (73) (74)	

Determinación de sólidos del *Aloe vera* a 40 y 80°C:

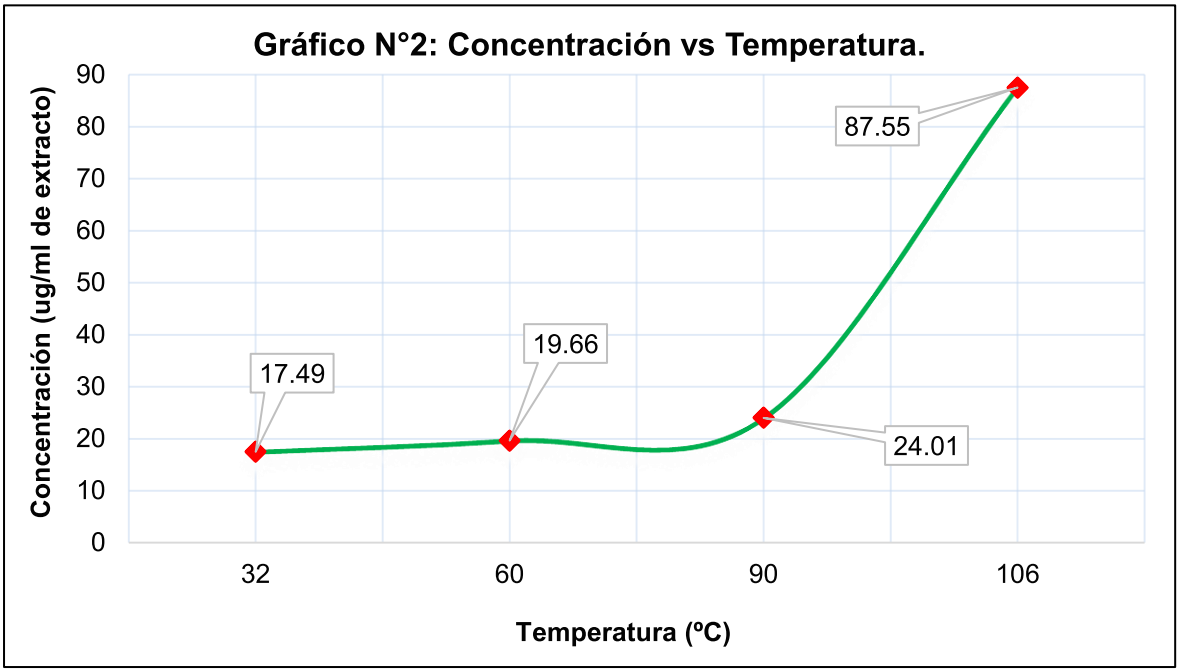


Los 50.2788g de gel de *Aloe vera*, extraídos de hojas de 43cm de largo, 3cm ancho superior y 7cm de inferior, calentados a 40°C tuvieron un peso final de 0.2324g de sólidos, requiriendo 41 horas para alcanzar el peso constante, mientras que los 50.3751g de gel extraídos de hojas de 44.33cm de largo, 3cm ancho superior y 7cm de inferior, calentados a 80°C tuvieron un peso final de 0.4489g de sólidos, requiriendo 10 horas para alcanzar el peso constante. La cantidad de sólidos a diferentes temperaturas se debe a variaciones en el largo de las hojas y peso promedio usado a 80°C. El peso a 80°C disminuyó 76% más rápido (31 horas menos) que el peso a 40°C, debido a la pérdida masiva de agua en forma de vapor por una mayor acción del calor, hasta peso constante, determinando 99.3% de agua y 0.7% de sólidos presentes en el gel.

Las temperaturas usadas para la deshidratación no afecta la cantidad de sólidos del gel, evitando usar temperaturas muy altas, ya que pueden desnaturalizar los componentes activos, disminuyendo su actividad biológica.

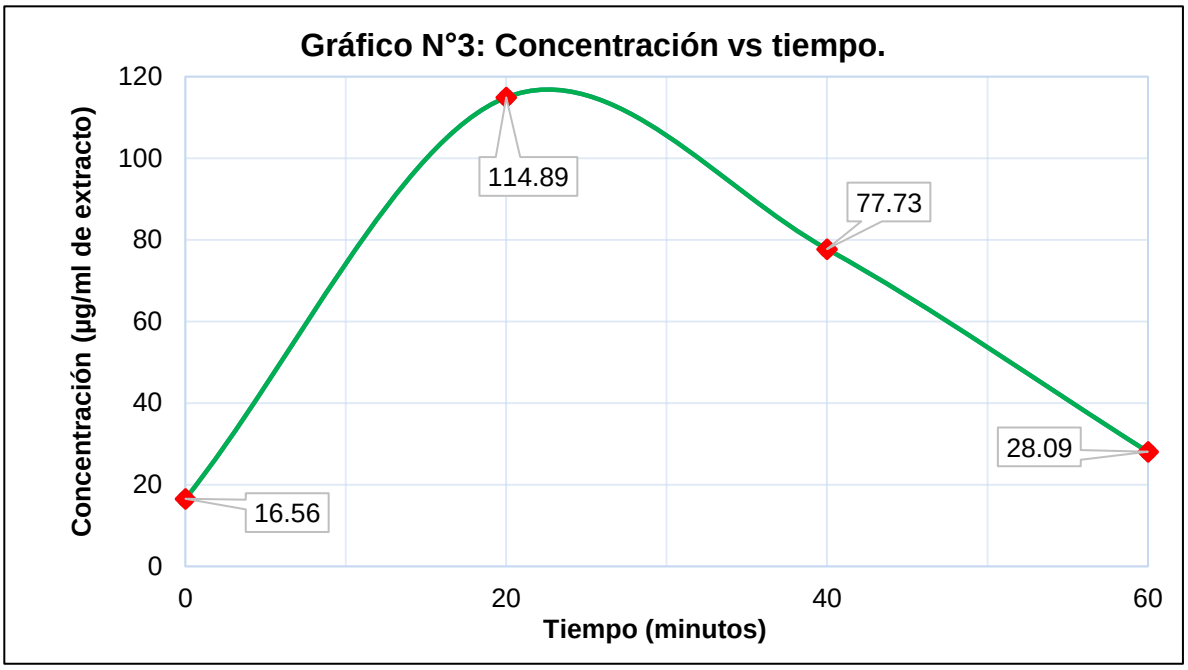
Determinación de estabilidad del gel de *Aloe vera*:

Estabilidad en relación a la temperatura:



Calentado el gel a 60°C por 20 minutos, la concentración de polifenoles totales aumentó 12.4% (2.17µg de polifenoles/ml de extracto) con respecto a la concentración inicial (17.49µg de polifenoles/ml de extracto); a 90°C aumentó 37.3% (6.52µg de polifenoles/ml de extracto), debido a la inactivación parcial de las enzimas polifenoloxidasas, disminuyendo la hidroxilación y oxidación de polifenoles, aumentando su concentración. Estas enzimas tienen su máxima actividad entre 30-40°C, disminuyendo su actividad a temperaturas mayores de 40°C; a 106°C aumentó 400.6% (70.06µg de polifenoles/ml de extracto), alcanzando su máxima concentración, debido a grandes pérdidas de solvente (agua) aumentando la concentración de solutos (polifenoles), logrando un mayor grado de inactivación de enzimas polifenoloxidasas oxidoreductasa. (68) (69)

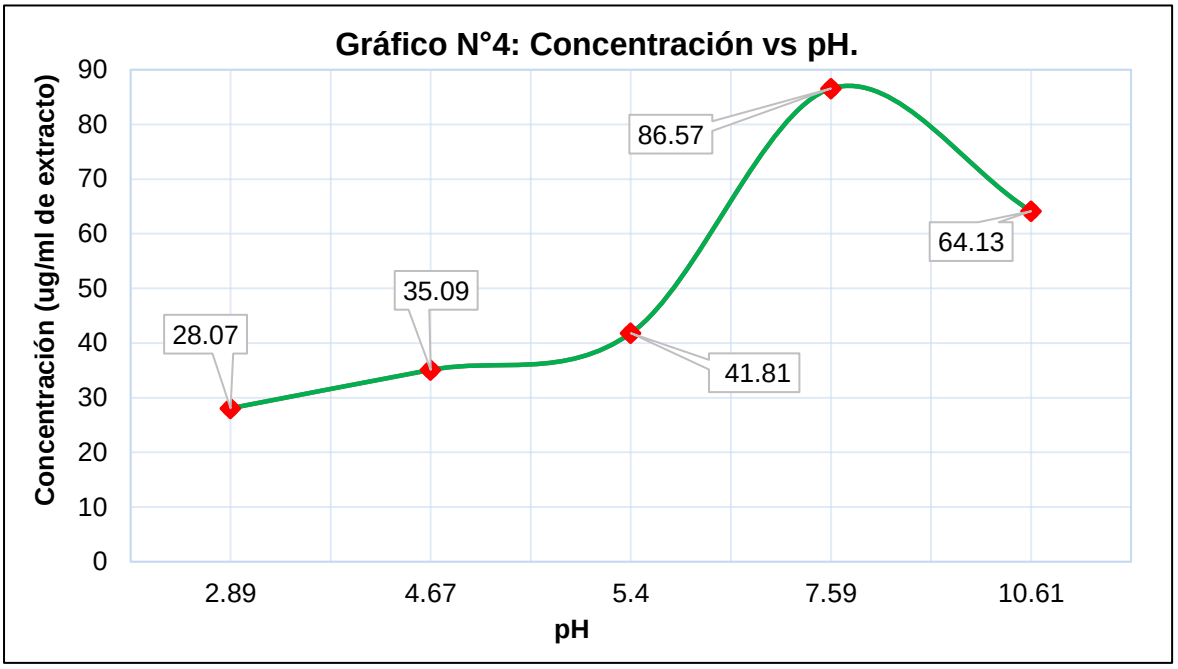
Estabilidad en relación al tiempo:



Luego de agregar 1ml de la solución de $KMnO_4$ 0.0001013N y dejar reposar durante 20 minutos, la concentración de polifenoles aumentó 593.8% (98.33µg de polifenoles/ml de extracto), con respecto a la concentración inicial (16.56µg de polifenoles/ml de extracto), debido a la reacción REDOX con el $KMnO_4$, provocando un aumento en la concentración de polifenoles para disminuir al máximo el efecto degradativo del $KMnO_4$, alcanzando la máxima concentración y actividad antioxidante.

A los 40 minutos disminuyó 32.3% (37.16µg de polifenoles/ml de extracto) y al completar 60 minutos disminuyó 75.6% (86.8µg de polifenoles/ml de extracto), con respecto a la máxima concentración obtenida en el análisis, respectivamente, ya que a medida que transcurre el tiempo disminuye la concentración y actividad antioxidante de los polifenoles por la acción degradativa del $KMnO_4$, con la posterior inhibición de la actividad terapéutica deseada (cicatrizante). (71)

Estabilidad en relación al pH:



A pH 2.89, la concentración de polifenoles totales disminuyó 20% (7.02µg de polifenoles/ml de extracto) con respecto a la concentración y pH inicial (pH 4.67, 35.09µg de polifenoles/ml de extracto) debido a la acidificación del gel, que favoreció la unión de polifenoles con las proteínas de la sábila gracias a su alto grado de hidroxilación, donando protones para formar puentes de hidrógeno con las proteínas a través del grupo hidroxilo. Dicha interacción reduce el número de grupos hidroxilos, que al añadir el reactivo Folin-Ciocalteu, no reaccionan, disminuyendo su detección y concentración. La reacción entre los polifenoles con el HCL produce hidrólisis ácida, reduciendo su concentración. A pH 5.4, aumentó 19.2% (6.72µg de polifenoles/ml de extracto), debido a una disminución en la interacción de polifenoles con las proteínas de la sábila. A pH 7.59, aumentó 146.7% (51.48 µg de polifenoles/ml de extracto), alcanzando su máxima concentración, debido a que se favoreció la ruptura de enlaces peptídicos entre aminoácidos que forman las proteínas, haciendo que los aminoácidos libres se unieran a los compuestos fenólicos creando una mayor cantidad de compuestos cuantificados. A pH 10.61, la concentración decayó 25.9%, con respecto a la máxima concentración obtenida en el análisis, ya que a mayor pH los polifenoles son menos estables, sufriendo una hidrólisis alcalina, degradando la molécula. (70)

Determinación de sólidos totales:

Plantago major:

Tabla Nº6: Sólidos totales de *Plantago major*.

Relación droga/solvente	Mezcla hidroalcohólica	Sólidos totales (%)	Promedio	Constante dieléctrica (ε)
1:5	35%	3.450337966	3.202586372	60
		2.954834777		
1:5	50%	3.7063624	3.706736272	51.4
		3.707110143		
1:5	70%	3.2718342	3.314721808	40
		3.357609399		
1:10	35%	2.063704851	2.079440995	60
		2.0951771		
1:10	50%	2.5139274	2.489239875	51.4
		2.4645523		
1:10	70%	2.2263966	1.916531617	40
		1.6066667		

Se obtuvieron los mejores resultados en las relaciones droga/solvente 1:5 al 35, 50 y 70%. Se realizó el análisis de varianza de un factor para elegir estadísticamente las mejores condiciones de extracción en base a los sólidos totales obtenidos.

Análisis de varianza de un factor:

Resumen:

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1:5 35%	2	6.405172743	3.202586372	0.12276171
1:5 50%	2	7.413472543	3.706736272	2.7956E-07
1:5 70%	2	6.629443599	3.3147218	0.00367869

Análisis de Varianza:

Origen de las variaciones	SC	GL	Promedio de los cuadrados	F	P	Valor crítico para F
Entre grupos	0.280277881	2	0.140138941	3.32501242	0.173336185	9.552094496
Dentro de los grupos	0.126440677	3	0.042146892			
Total	0.406718559	5				

SC: suma de cuadrados; GL: grados de libertad; P: probabilidad.

Planteamiento de hipótesis:

Hipótesis nula, H_0: Todas las medias son iguales.
Hipótesis alternativa, H_1: Al menos una media es diferente.

Criterio de aceptación:

Pcalculada>Ptabulada= Se acepta hipótesis nula.
Pcalculada<Ptabulada= Se rechaza hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

Resultados:

Ptabulada: α= 0.05
Pcalculada: 0.17

Se trabajó con un nivel de confianza del 95% y una significancia del 5%. Según el análisis de varianza de un factor, donde Pcalculada>Ptabulada, se acepta la hipótesis nula, que todas las medias son iguales, es decir, no hay diferencia importante (significativa), entre los resultados.

En base a lo obtenido, se eligió la relación droga/solvente 1:5 al 50%, donde se obtuvo el mayor porcentaje de sólidos totales (3.71%), cuya constate dieléctrica de la mezcla hidroalcohólica (51.4) permitió la mayor extracción de los metabolitos de interés responsables de la actividad farmacológica deseada.

Calendula officinalis:

Tabla Nº7: Sólidos totales de *Calendula officinalis*.

Relación droga/solvente	Mezcla hidroalcohólica	Sólidos totales (%)	Promedio	Constante dieléctrica (ε)
1:5	35%	2.893547804	2.463834854	60
		2.034121905		
1:5	50%	3.551678924	3.611334643	51.4
		3.670990363		
1:5	70%	2.7614184	3.024530143	40
		3.287641893		
1:10	35%	1.994543231	2.067400408	60
		2.1402576		
1:10	50%	2.0667384	2.054134837	51.4
		2.0415312		
1:10	70%	1.8892767	1.880014303	40
		1.8707519		

Se obtuvieron los mejores resultados en las relaciones droga/solvente 1:5 al 35, 50 y 70%. Se realizó un análisis de varianza de un factor para elegir estadísticamente las mejores condiciones de extracción en base a los sólidos totales obtenidos.

Análisis de varianza de un factor:

Resumen:

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1:5 35%	2	4.927669709	2.463834855	0.36930644
1:5 50%	2	7.222669287	3.611334644	0.00711761
1:5 70%	2	6.049060293	3.024530147	0.13845558

Análisis de Varianza:

Origen de las variaciones	SC	GL	Promedio de los cuadrados	F	P	Valor crítico para F
Entre grupos	1.316982996	2	0.658491498	3.83676957	0.149011303	9.552094496
Dentro de los grupos	0.51487963	3	0.171626543			
Total	1.831862626	5				

SC: suma de cuadrados; GL: grados de libertad; P: probabilidad.

Planteamiento de hipótesis:

Hipótesis nula, H_0: Todas las medias son iguales.
Hipótesis alternativa, H_1: Al menos una media es diferente.

Criterio de aceptación:

Pcalculada>Ptabulada= Se acepta hipótesis nula.
Pcalculada<Ptabulada= Se rechaza hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

Resultados:

Ptabulada: α= 0.05
Pcalculada: 0.15

Se trabajó con un nivel de confianza del 95% y una significancia del 5%. Según el análisis de varianza de un factor, donde Pcalculada>Ptabulada, se acepta la hipótesis nula, que todas las medias son iguales, es decir, no hay diferencia importante (significativa) entre los resultados. Se elige la relación droga/solvente 1:5 al 50%, donde se obtuvo el mayor porcentaje de sólidos totales (3.61%), cuya constate dieléctrica de la mezcla hidroalcohólica (51.4) permitió la mayor extracción de los metabolitos de interés responsables de la actividad farmacológica deseada.

Control de calidad de extractos fluidos:

La determinación de los parámetros de calidad de los extractos fluidos se realizó en base a la Norma Ramal Ecuatoriana de control de calidad de fitofármacos.

Tabla N°8: Tamizaje fitoquímico.

Ensayo	Metabolito identificado	Extractos fluidos		
		Aloe vera	*Plantago major*	*Calendula officinalis*
Dragendorff	Alcaloides	(+)	(+++)	(+++)
Wagner		(+)	(+++)	(+++)
Mayer		(+)	(+++)	(+++)
Fehling	Azúcares reductores	(+++)	(+++)	(+++)
Molish	Azúcares	(-)	(-)	(-)
Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	(+++)	(+++)	(+++)
Folin-Ciocalteu		(+++)	(+++)	(+++)
Shinoda	Flavonoides	(+)	(++)	(+++)
Baljet	Lactonas y Cumarinas	(+++)	(++)	(++)
Hematoxilina	Mucílagos	(+++)	(+++)	(-)
Borntrager	Quinonas y/o Antraquinonas	(+)	(+)	(++)
Ensayo de espuma	Saponinas	(-)	(++)	(++)
Ensayo de gelatina	Taninos	(+++)	(+++)	(+)
Liebermann-Burchard	Triterpenos y/o Esteroides	(-)	(++)	(++)

(-): ausencia; (+): bajo contenido; (++): contenido moderado; (+++): alto contenido.

Se realizó un tamizaje fitoquímico de las especies medicinales de interés, para identificar los metabolitos secundarios responsables de sus efectos farmacológicos.

En el ensayo de Dragendorff, Wagner y Mayer, se identificó la presencia de alcaloides en las tres plantas, con un alto contenido en *Plantago major* y *Calendula officinalis,* al observarse precipitado y bajo contenido en *Aloe vera* presentando únicamente opalescencia. En el ensayo de Fehling las tres especies medicinales presentaron un alto contenido de azúcares reductores, al observarse precipitado rojo, a diferencia de la reacción de Molish que no se coloreó violeta por ausencia de azúcares en las tres plantas.

En el ensayo de cloruro férrico y Folin-Ciocalteu se identificó la presencia de compuestos fenólicos en grandes cantidades al observarse un intenso color azul verdoso en las tres plantas. En el ensayo de Shinoda se identificó la presencia de flavonoides, alto contenido en *Calendula officinalis* por la intensa coloración amarillenta rojiza del alcohol isoamílico, contenido moderado en *Plantago major* y bajo contenido en *Aloe vera*.

En el ensayo de Baljet se observó alto contenido de lactonas y cumarinas en *Aloe vera,* por la aparición de precipitados rojizos y contenido moderado en *Plantago major* y *Calendula officinalis* por dar coloraciones rojizas en ambos casos. Se identificó la presencia de mucílagos en altos contenidos en *Aloe vera* y *Plantago major* por la presencia de precipitados violetas y ausencia en *Calendula officinalis*.

En el ensayo de Borntrager se identificó la presencia de quinonas y/o antraquinonas, contenido moderado en *Calendula officinalis* por la aparición de color rosado en la fase acuosa, y un bajo contenido en *Aloe vera* y *Plantago major*. En el ensayo de espuma se identificó un contenido moderado de saponinas en *Plantago major* y *Calendula officinalis*, al presentar una altura de espuma entre 10-14mm después de fuerte agitación y reposo de 15 minutos, mientras que el *Aloe vera* tenía una altura de menos de 5mm no detectando saponinas.

En el ensayo de gelatina se identificó un alto contenido de taninos en *Aloe vera* y *Plantago major*, por presencia de precipitados y bajo contenido en *Calendula officinalis* al observar únicamente turbidez. En el ensayo de Liebermann-Burchard se identificó un contenido moderado de triterpenos y/o glicósidos terpénicos en *Plantago major* y *Calendula officinalis*, al observar una coloración verdosa, mientras que en *Aloe vera* hay ausencia de estos compuestos.

Se llevó a cabo una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica que nos permitió detectar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en cada planta medicinal, para orientar la extracción y aislamiento de los grupos de mayores interés. (6) (32) (66)

Tabla Nº9: Determinación de parámetros organolépticos de extractos fluidos.

Parámetros	Extractos fluidos		
	Aloe vera	*Plantago major*	*Calendula officinalis*
Color	Opalescente	Marrón	Rojo caoba ámbar
Olor	Característico	Característico	Característico
Sabor	Amargo	Dulce	Dulce
Homogeneidad	Sí	Sí	Sí
Presencia de partículas	No	No	No
Separación de fases	Monofásico	Monofásico	Monofásico

Los parámetros organolépticos están en correspondencia con la bibliografía de referencia, garantizando la adecuada preparación de los extractos hidroalcohólicos de Plantago major y Calendula officinalis, así como la extracción y estabilización del gel de Aloe vera, evitando posibles perturbaciones que pudieran modificar la apariencia de los extractos.

Tabla Nº10: Determinación de parámetros fisicoquímicos de extractos fluidos.

Parámetros	Extractos fluidos		
	Aloe vera	*Plantago major*	*Calendula officinalis*
pH	4.37	5.26	5.58
Densidad relativa	1.0021	0.9587	0.9608
Densidad absoluta	0.9885g/ml	0.9456g/ml	0.9477g/ml

Los valores obtenidos según la escala de pH son ácidos para las tres especies vegetales medicinales, debido a la presencia de ácidos fenólicos. El *Aloe vera* tiene entre otros ácido cumárico y cinámico; *Plantago major* tiene ácido gálico; *Calendula officinalis* tiene ácido málico y salicílico, favoreciendo la elaboración de formas farmacéutica tópicas, al poseer compatibilidad con el pH de la piel (4-7) garantizando seguridad al aplicarlos tópicamente, evitando irritaciones cutáneas. Los valores de densidad absoluta que relaciona la masa y volumen de los extractos están en correspondencia con la bibliografía de referencia, indicando la adecuada extracción de los metabolitos de interés. (75) (76) (77)

En la determinación de la densidad relativa de los extractos se usó como líquido de referencia el agua. Los extractos de *Plantago major* y *Calendula officinalis* son menos densos que el agua al tener valores menores a la unidad, a diferencia del gel de *Aloe vera* que presentó una densidad relativa mayor a la unidad, indicando que es más denso que el agua, ya que está constituido por 99.3% agua y 0.7% de sólidos formados por 60% de mucílagos que retienen grandes cantidades de agua.

Cuantificación de principios activos presentes en extractos fluidos:

Tabla Nº11: Cuantificación de polifenoles totales por espectrofotometría UV-visible presentes en el gel de *Aloe vera*.

Compuesto	Concentración (µg/ml)	Absorbancias (triplicado)
Estándar de referencia ácido gálico	1.8488	0.175957
	3.6975	0.31724
	5.5463	0.506097
	7.3950	0.709237
	9.2438	0.808357
Gel de *Aloe vera*	0.276	0.024205

Se obtuvo 0.276µg/ml equivalentes a 16.56µg/ml de polifenoles en el gel puro.

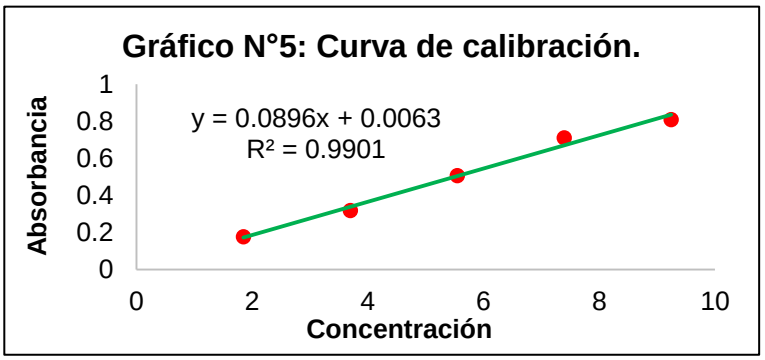


Tabla Nº12: Cuantificación de taninos totales por espectrofotometría UV-visible presentes en el extracto hidroalcohólico del *Plantago major.*

Compuesto	Concentración (µg/ml)	Absorbancias (triplicado)
Estándar de referencia ácido tánico	1.82020	0.16253
	3.64040	0.29488
	5.46050	0.41798
	7.28070	0.50894
	9.10090	0.59320
Extracto de *Plantago major*	35.823	2.512533

Se obtuvo 35.823µg/ml equivalentes a 2,149.34µg/ml de taninos en el extracto puro.

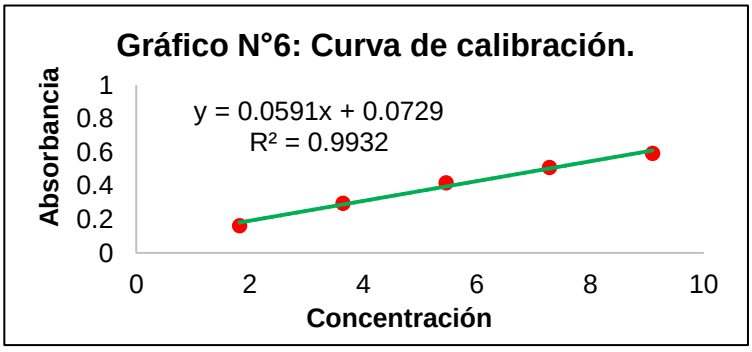
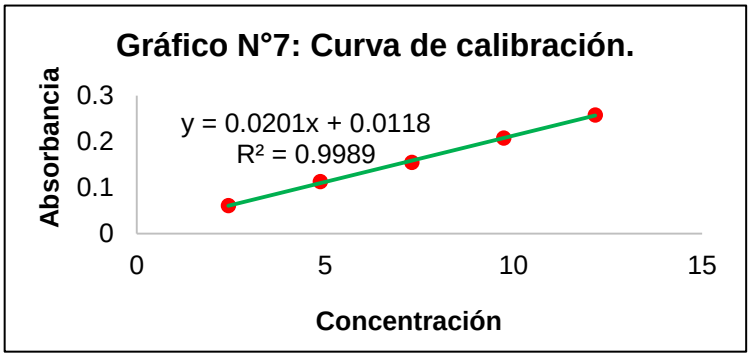


Tabla Nº13: Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría UV-visible presentes en el extracto hidroalcohólico de *Calendula officinalis*.

Compuesto	Concentración (µg/ml)	Absorbancias (triplicado)
Estándar de referencia quercetina	2.43360	0.06050
	4.86730	0.11282
	7.30100	0.15482
	9.73470	0.20776
	12.16830	0.258
Extracto de *Calendula officinalis*	81.246	1.752733

Se obtuvo 81.246µg/ml equivalentes a 4,874.66µg/ml de flavonoides en extracto puro.



El coeficiente de determinación (R^2) de las curvas de calibración de los diferentes patrones de referencia utilizados es aceptable al tener un valor cercano a la unidad, cumpliendo con la ley de Lambert-Beer, donde 3 o más puntos son paralelos a la recta de la curva.

Tabla Nº14: Determinación de la cantidad de trietanolamina.

Determinación	Formulaciones		
	0.5%	**0.75%**	**1%**
pH Inicial	2.66	2.35	2.15
pH final	5.51	5.51	5.46
TEA (ml)	0.45ml	0.75ml	0.95ml
TEA (g)	0.5g	0.84g	1.07g

Se determinó la cantidad de trietanolamina (99.3%) agregando gota a gota hasta alcanzar un pH aproximado de 5.5, el cual garantiza que no haya irritación en la piel por valores inadecuados de pH.

Elección de la formulación ideal (Diseño experimental de un factor):

La formulación de gel placebo se realizó a tres niveles de concentración de agente gelificante (0.5, 0.75, 1%), evaluando características organolépticas como el color, olor, aspecto, untuosidad, presencia de grumos, partículas, homogeneidad, separación de fases y textura, así como la determinación de parámetros fisicoquímicos como extensibilidad, pH y viscosidad.

Se propuso un experimento con un solo factor (concentración) a 3 niveles (0.5, 0.75, 1%) y 9 mediciones por nivel, teniendo un total de 27 mediciones.

Tabla Nº15: Resultados aleatorios de las mediciones.

Secuencia de prueba	Orden de lecturas	Concentración de carbopol 940	Parámetro	Resultado
1	23	1%	Viscosidad	2800cp
2	6	0.5%	Viscosidad	1800cp
3	20	1%	pH	5.54
4	9	0.5%	Extensibilidad	6.2cm
5	5	0.5%	Viscosidad	1800cp
6	12	0.75%	pH	5.66
7	2	0.5%	pH	5.77
8	17	0.75%	Extensibilidad	5.9cm
9	13	0.75%	Viscosidad	2400cp
10	21	1%	pH	5.61
11	24	1%	Viscosidad	2700cp
12	7	0.5%	Extensibilidad	6.6cm
13	10	0.75%	pH	5.57
14	1	0.5%	pH	5.85
15	22	1%	Viscosidad	2600cp
16	3	0.5%	pH	5.53
17	4	0.5%	Viscosidad	1800cp
18	11	0.75%	pH	5.69
19	16	0.75%	Extensibilidad	5.7cm
20	25	1%	Extensibilidad	4.7cm
21	18	0.75%	Extensibilidad	5.1cm
22	8	0.5%	Extensibilidad	6.4cm
23	26	1%	Extensibilidad	5.1cm
24	14	0.75%	Viscosidad	2300cp
25	27	1%	Extensibilidad	5.3cm
26	15	0.75%	Viscosidad	2400cp
27	19	1%	pH	5.50

Las determinaciones se realizaron aleatoriamente para evitar efectos de variables perturbadoras desconocidas que podrían alterar los cálculos obtenidos en las mediciones desviando la mejor elección. La extensibilidad y viscosidad depende principalmente de la cantidad de agente gelificante, el gel con menor cantidad de agente gelificante (0.5%), tiene mayor extensibilidad pero menor viscosidad en comparación a los demás geles, debido a su textura más ligera extendiéndose con más facilidad por efectos de peso. Por el contrario, los geles con mayor cantidad de agente gelificante (0.75, 1%), tienen menor extensibilidad y mayor viscosidad, debido a su textura más densa.

Tabla Nº16: Determinación de parámetros organolépticos de geles placebo.

Ensayo	Formulaciones		
	0.5%	**0.75%**	**1%**
Color	Traslúcido	Traslúcido	Traslúcido
Olor	Característico	Característico	Característico
Aspecto	Semisólido transparente	Semisólido mayormente transparente	Semisólido moderadamente transparente
Untuosidad	No untuoso	Ligeramente untuoso	Moderadamente untuoso
Presencia de grumos	Ausente	Ausente	Ausente
Presencia de partículas	Ausente	Ausente	Ausente
Homogeneidad	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
Separación de fases	Monofásico	Monofásico	Monofásico
Textura	Gel tipo serum al tacto, fácil de desintegrar	Gel ligeramente cremoso al tacto, fácil de desintegrar	Gel moderadamente cremoso al tacto, ligeramente difícil de desintegrar

La elección del gel placebo estuvo condicionado por las características organolépticas, eligiendo la formulación al 1%, debido que presentó mejor aspecto, untuosidad y textura según las características esperadas por el investigador, teniendo mejor apariencia, oleosidad y fluidez en comparación con los geles al 0.5 y 0.75%, facilitando su aplicación y absorción en la piel.

Tabla Nº17: Determinación de parámetros fisicoquímicos de geles placebo.

Propiedades fisicoquímicas	Referencia	Formulaciones		
		0.5%	**0.75%**	**1%**
Extensibilidad	Máximo 5cm	6.15cm	5.34cm	4.87cm
pH	4-7	5.72	5.64	5.55
Viscosidad	No hay valor	1800cp	2367cp	2700cp

En la elección del gel placebo condicionado por las características fisicoquímicas se eligió el gel al 1%, debido que presentó los mejores parámetros de extensibilidad y viscosidad, confiriéndole buena textura y distribución sobre la piel. El pH no fue determinante para la elección del mejor gel placebo, ya que se trabajó con un rango controlado por el investigador.

Tabla Nº18: Fórmula cualicuantitativa de formulación ideal.

Sustancias	Cantidad (%)	Función
Carbopol 940	0.5-2	Gelificante
Propilenglicol	15-30	Humectante y conservante
Trietanolamina	2-4	Neutralizante
Metilparaben	0.02-0.3	Conservante antimicrobiano
Propilparaben	0.01-0.6	Conservante antimicrobiano
Agua csp	100	Solvente

Las cantidades de cada uno de los excipientes utilizados en la elaboración de los geles placebos fueron tomadas mediante referencias bibliográficas (handbook de excipientes).

Combinaciones de extractos fluidos.

Las combinaciones de extractos fluidos de *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis*, para la formulación de los geles cicatrizantes, se estudiaron a 3 niveles de concentración: 10, 15 y 20%.

Tabla N°19: Control de calidad del producto terminado.

Gel cicatrizante a base de extractos fluidos de *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis*.	
Características organolépticas	
Color	Café claro
Olor	Característico
Aspecto	Gel semisólido
Untuosidad	No untuoso
Presencia de grumos	Ausente
Presencia de partículas	Ausente
Homogeneidad	Homogéneo
Separación de fases	Monofásico
Textura	Gel ligeramente cremoso al tacto, fácil de desintegrar
Características fisicoquímicas	
pH	5.20
Viscosidad	2500cp
Extensibilidad	4.9cm

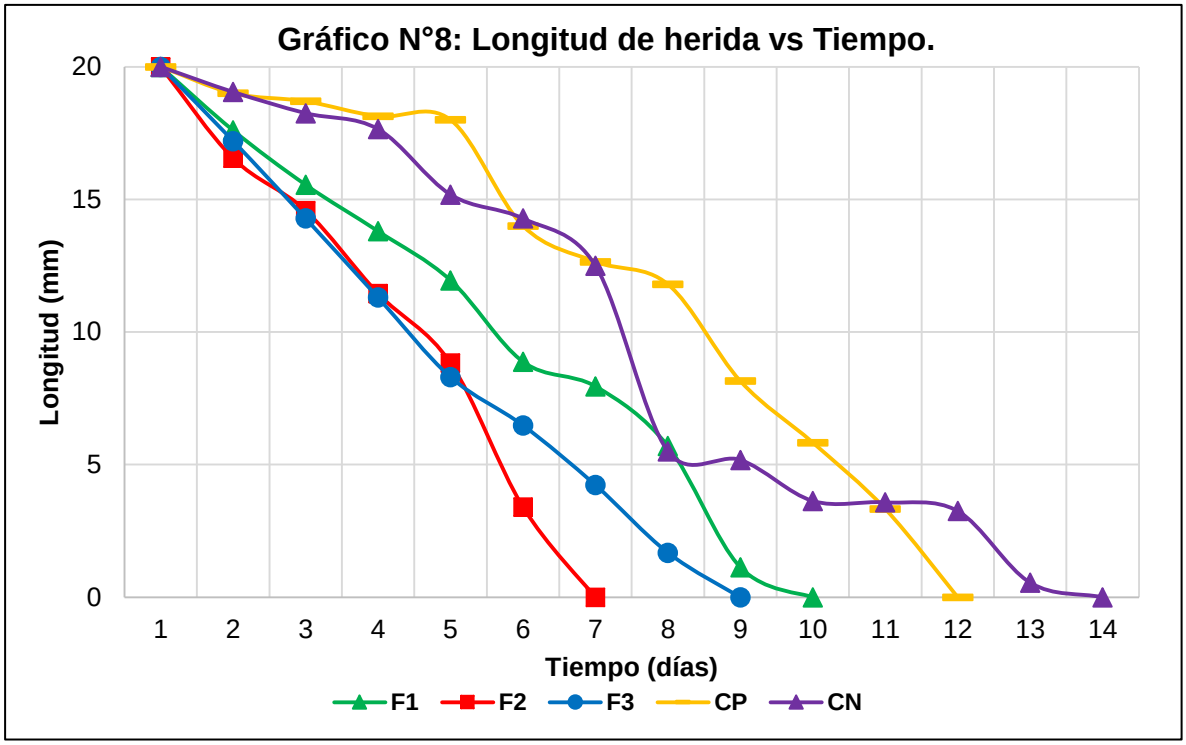
El producto final presenta conformidad en relación a las características organolépticas, al poseer buen aspecto, adecuada untuosidad al no dejar residuos tras lavado, ausencia de grumos, ausencia de partículas extrañas y presentación en una sola fase homogénea que garantiza la concentración de los principios activos en todas sus partes. De igual manera presenta conformidad en relación a las características fisicoquímicas, teniendo un pH óptimo que garantiza la estabilidad del producto y principios activos, adecuada viscosidad y extensibilidad que facilita la aplicación del gel en la piel. La determinación de los parámetros de calidad del producto terminado se realizó en base al RTCA 11.03.56:09 de productos naturales medicinales para uso humano, verificación de la calidad.

Tabla Nº20: Fórmula cualicuantitativa del gel cicatrizante efectivo.

Sustancias	**Cantidad (%)**	**Función**
Extracto fluido de *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis*	10-20	Cicatrizantes
Carbopol 940	0.5-2	Gelificante
Propilenglicol	15-30	Humectante y conservante
Trietanolamina	2-4	Neutralizante
Metilparaben	0.02-0.3	Conservante antimicrobiano
Propilparaben	0.01-0.6	Conservante antimicrobiano
Agua csp	100g	Solvente

Actividad cicatrizante del gel formulado a base de los extractos fluidos de *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis* en hámsteres sirio dorado.

Longitud de la herida por tratamiento:

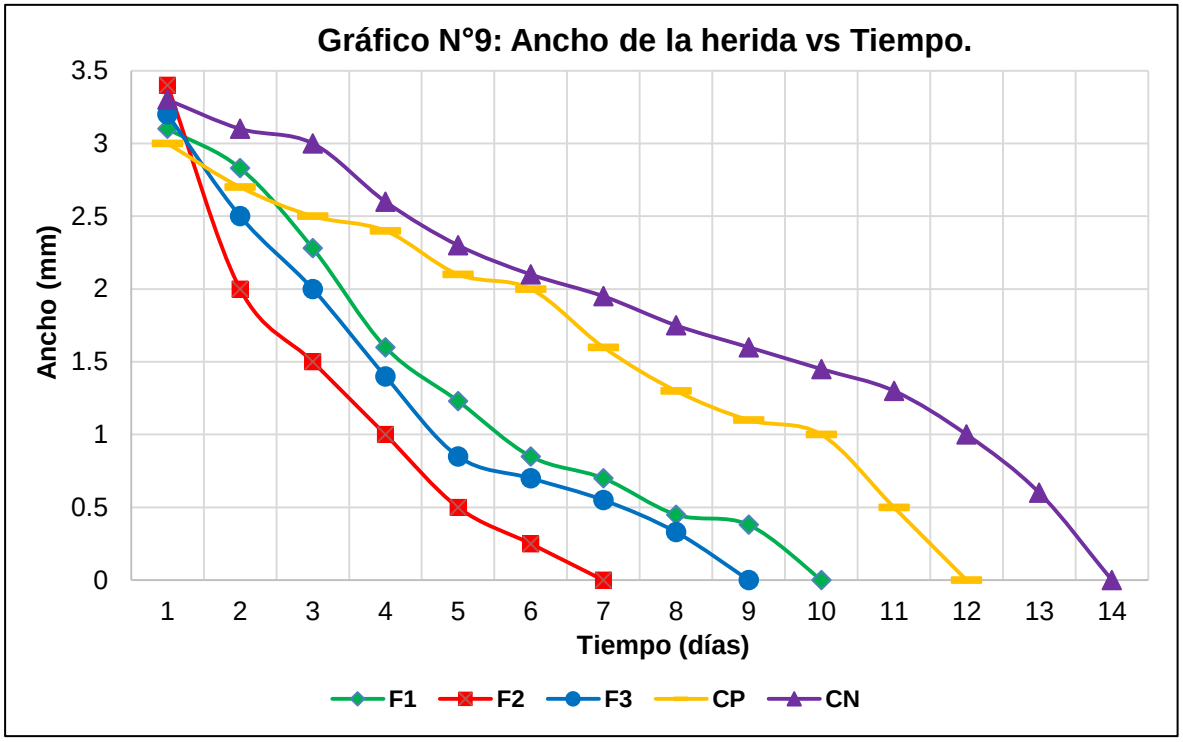


F: formulación; CP: control positivo; CN: control negativo.

El gráfico N°8 indica las longitudes obtenidas durante 14 días de medición diaria de la herida (mm), según los distintos tratamientos de investigación utilizados desde la inducción de la herida hasta el desprendimiento de la costra. Se observó que la formulación N°2 disminuyó gradualmente el largo de la herida hasta su cierre en 7 días de tratamiento, debido a la sinergia de componentes activos como mucílagos, taninos y flavonoides resultantes de la combinación de las plantas en proporciones efectivas que garantizan un marcado efecto para disminuir el tiempo de cicatrización en comparación con la formulación N°1 y N°3, cuyo proceso de cicatrización se dio a los 10 y 9 días, respectivamente. (6) (66)

La aplicación de Ketanserina como gel de referencia indujo la disminución del largo de la herida hasta su cierre en 12 días de tratamiento, siendo menos efectiva en reducir el tiempo de cicatrización que las formulaciones a base de las especies vegetales medicinales, mientras que el control negativo al no aplicarse ningún tratamiento inductor de la regeneración epitelial, el cierre de la herida hasta su cicatrización tardó 14 días. La formulación N°2 fue la más efectiva para la disminución longitudinal de la herida hasta su completa cicatrización en comparación con los demás tratamientos evaluados.

Ancho de la herida por tratamiento:

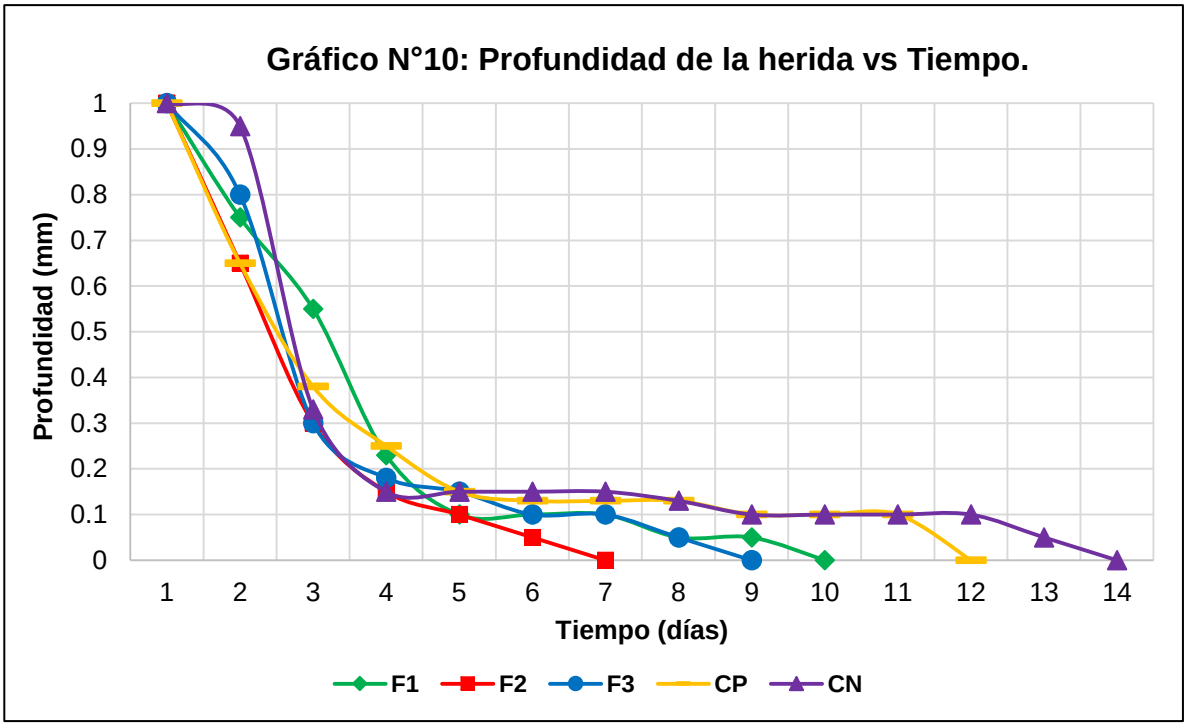


F: formulación; CP: control positivo; CN: control negativo.

El gráfico N°9 muestra los valores medidos diariamente del ancho de la herida con respecto al tiempo (días), hasta su completo cierre. La formulación N°2 redujo el ancho inicial de la herida (3.4mm) en 7 días, debido a su mayor efectividad cicatrizante al aumentar la síntesis de colágeno y fibronectinas que a su vez aumentan la coagulación de la sangre, expresión del factor de crecimiento endotelial en los queratinocitos y tejido del borde de la herida, promoviendo la angiogénesis, acelerando la contracción y cierre de los bordes. (6) (66)

La formulación N°1 demoró 10 días para reducir el ancho inicial (3.1mm) de la herida, mientras que la formulación N°3 tardó 9 días en reducir el ancho inicial (3.2mm). El control positivo redujo el ancho inicial de la herida (3mm), en 12 días, siendo el tratamiento con actividad cicatrizante de menor efectividad. El control negativo al no aplicar tratamiento redujo el ancho inicial (3.3mm), en un proceso más lento, demorando 14 días. La formulación N°2 fue más efectiva para la reducción en menor tiempo del ancho inicial de la herida en comparación con los demás tratamientos utilizados. Existen ligeras variaciones respecto al ancho de la herida entre los tratamientos debido a las características elásticas propias de la piel de los animales de experimentación de cada grupo.

Profundidad de la herida por tratamiento:

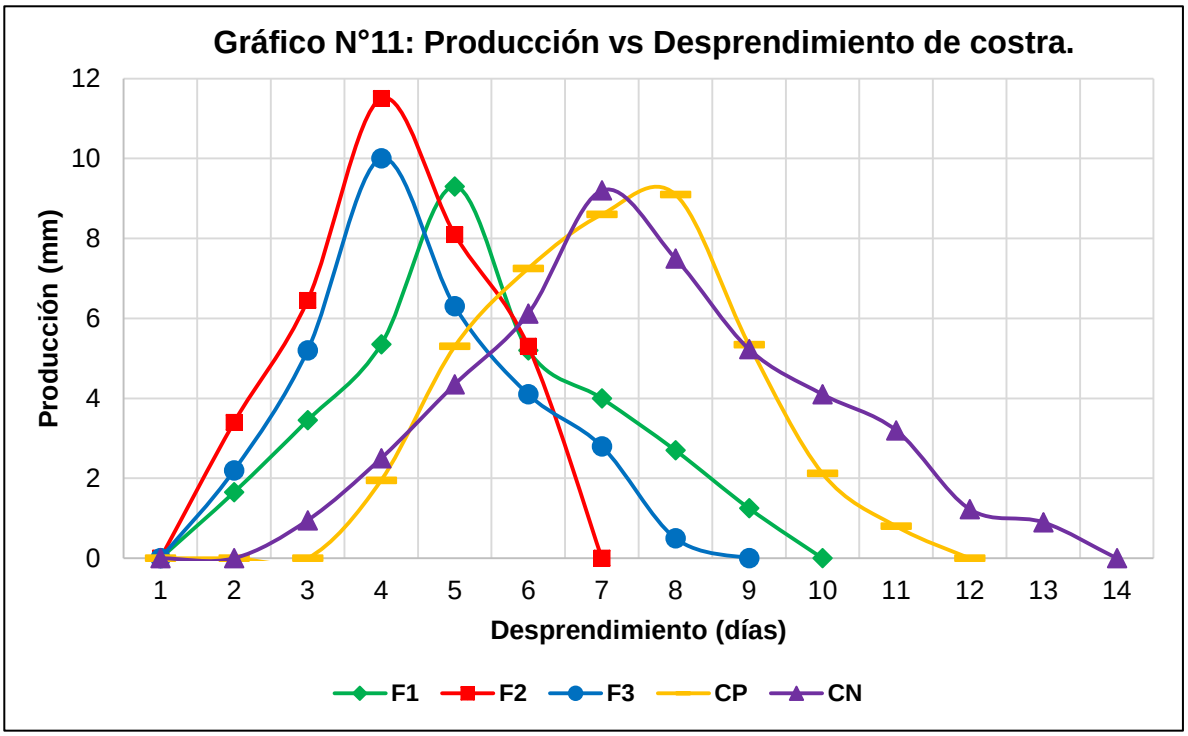


F: formulación; CP: control positivo; CN: control negativo.

En el gráfico N°10 se observan las mediciones diarias de la profundidad de la herida respecto a los días transcurridos hasta lograr el cierre total de la misma (tejido regenerado a nivel de tejido sano). Se demostró que la formulación N°2 redujo la profundidad de la herida en 7 días, al formar el relleno cicatricial en menor tiempo. A diferencia de la formulación N°1 y N°3 que tardaron 10 y 9 días, respectivamente.

El control positivo tardó 12 días, siendo el tratamiento cicatrizante menos efectivo, mientras que el control negativo al no aplicar tratamiento duró 14 días. Siendo la formulación N°2 más efectiva para la reducción en menor tiempo de la profundidad de la herida en comparación con los demás tratamientos utilizados. No hubo variaciones en la profundidad de la herida, al existir homogeneidad en el grosor de la piel del dorso de cada animal de experimentación.

Producción y desprendimiento de costra por tratamiento:

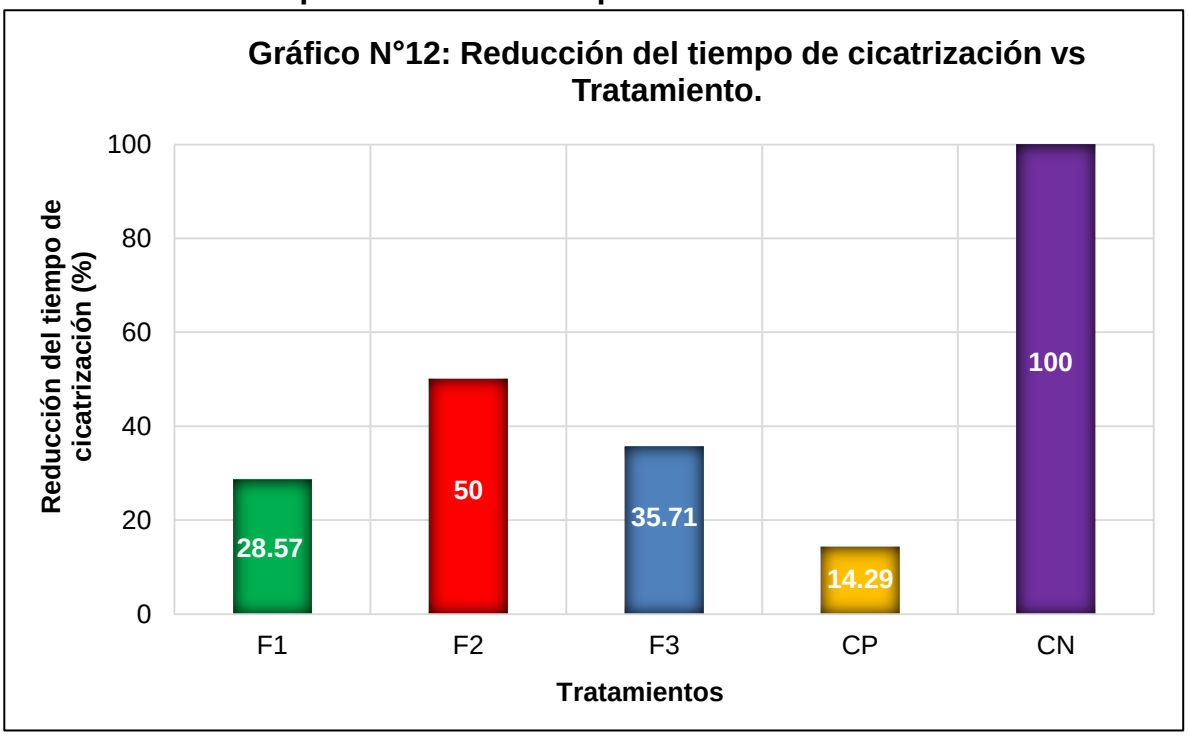


F: formulación; CP: control positivo; CN: control negativo.

En el gráfico N°11 se observa la producción diaria de costra según el tiempo (días) hasta el desprendimiento total de la misma, donde la formulación N°2 obtuvo la mayor producción de costra a los 4 días de tratamiento y caída de la misma en 7 días, debido a que la regeneración epitelial se dio con más rapidez, haciendo que la costra por contracción y regeneración de tejidos se deseque más rápido en comparación con los demás tratamientos. La formulación N°1 y N°3 obtuvieron su máxima producción de costra a los 5 y 4 días, caída de la misma en 9 y 10 días, respectivamente. (6) (66)

El control positivo obtuvo su máxima producción de costra a los 8 días y desprendimiento de la misma en 12 días, mostrando menor efectividad en acortar el tiempo de producción y caída de la costra. El control negativo obtuvo la máxima producción de costra en 7 días y desprendimiento de la misma en 14 días. La formulación N°2 fue más efectiva para el tiempo de inicio de formación y desprendimiento de costra de cada herida, en comparación con los demás tratamientos utilizados.

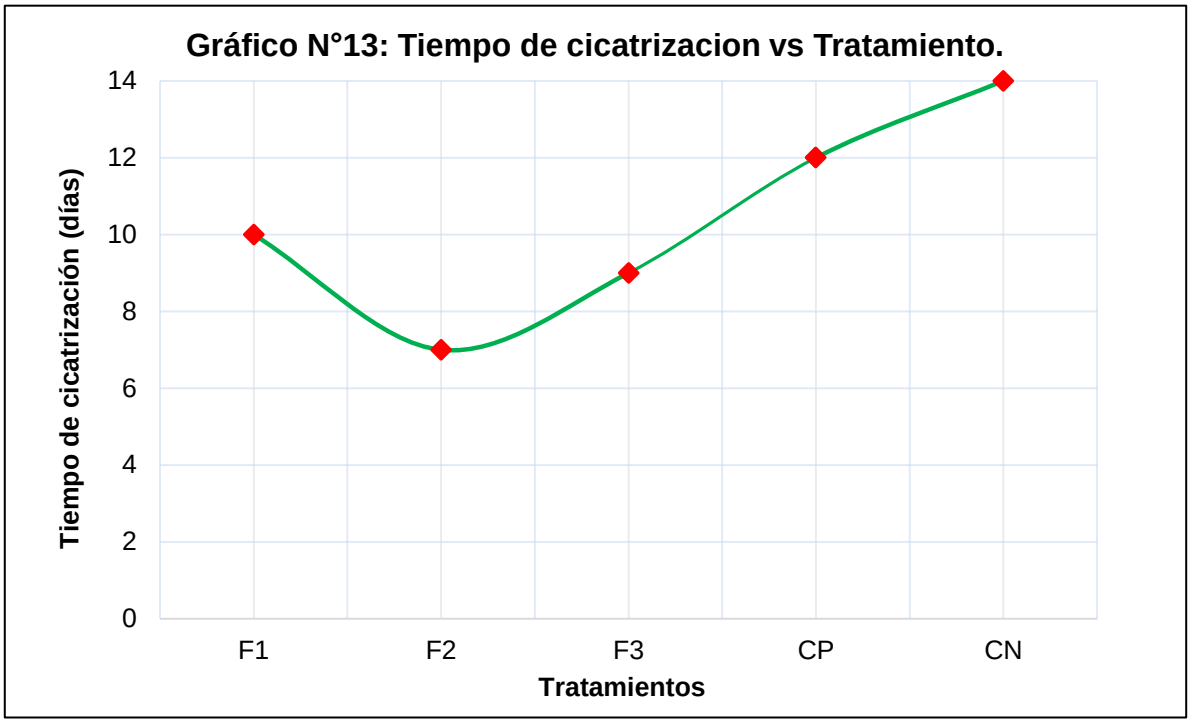
Reducción del tiempo de cicatrización por tratamiento:



F: formulación; CP: control positivo; CN: control negativo.

En el gráfico N°12 se determinó porcentualmente la reducción del tiempo de cicatrización de cada tratamiento aplicado, tomando como referencia el tiempo de cicatrización del control negativo (14 días), expresado como 100%. En la formulación N°1 el tiempo de cicatrización respecto al blanco se redujo 28.57% (4 días); la formulación N°2 se redujo 50% (7 días) y la formulación N°3 se redujo 35.71% (5 días). El control positivo redujo únicamente 2 días (14.29%), siendo el menos efectivo para reducir el tiempo de cicatrización. La formulación N°2 fue la más efectiva para inducir la reepitelización de tejidos en menor tiempo, evitando la contaminación de las heridas al exponerse menos a factores contaminantes. (6) (66)

Tiempo de cicatrización por tratamiento:



F: formulación; CP: control positivo; CN: control negativo.

El gráfico N°13 muestra la duración en días de cada tratamiento utilizado para lograr la cicatrización total de la herida. Las mediciones determinaron que la formulación N°2 indujo la cicatrización más rápido en comparación con los demás tratamientos al reducir al mínimo el tiempo de cicatrización (7 días).

Estos resultados se deben a la proporción ideal de metabolitos secundarios de las tres plantas, conteniendo la formulación N°2 (0.13248mg de polifenoles en *Aloe vera*, 6.44802mg de taninos en *Plantago major*, 19.49864mg de flavonoides en *Calendula officinalis*) para un total de 26.07914mg de metabolitos secundarios. La formulación N°1 (0.0828mg de polifenoles en *Aloe vera*, 4.29868mg de taninos en *Plantago major*, 14.62398mg de flavonoides en *Calendula officinalis)* para un total de 19.00546mg de metabolitos secundarios y la formulación N°3 (0.1656mg de polifenoles en *Aloe vera*, 2.14934mg de taninos en *Plantago major*, 43.87194mg de flavonoides en *Calendula officinalis)* para un total de 46.18688mg de metabolitos secundarios entre las tres plantas. (6)

Los efectos cicatrizantes de las plantas medicinales utilizadas se deben a la presencia de flavonoides en la *Calendula officinalis,* los cuales son regenerantes de tejidos y poseen grandes efectos antibacteriales. Los taninos del *Plantago major* que se unen a las proteínas de las costras mediante puentes de hidrógeno que favorecen la coagulación y crean un medio seco que impide el desarrollo de las bacterias al constreñir los vasos sanguíneos y los mucílagos del *Aloe vera* que tienen capacidad regenerativa basada en la estimulación del crecimiento de fibroblastos y contenido en colágeno, que al combinarse tienen un efecto sinérgico, reduciendo el tiempo de cicatrización y evitando la contaminación bacteriana.

Análisis estadístico:

Análisis de varianza de un factor:

Resumen:

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Formulación N°1	2	19	9.5	0.5
Formulación N°2	2	13	6.5	0.5
Formulación N°3	2	17	8.5	0.5
Control Positivo	2	24	12	2
Control Negativo	2	28	14	2

Análisis de varianza:

Origen de las variaciones	SC	GL	Promedio de los cuadrados	F	P	Valor crítico para F
Entre grupos	69.4	4	17.35	15.7727273	0.004845872	5.192167773
Dentro de los grupos	5.5	5	1.1			
Total	74.9	9				

SC: suma de cuadrados; GL: grados de libertad; P: probabilidad.

Planteamiento de hipótesis:

Hipótesis nula, H_0: No hay diferencia significativa en la actividad cicatrizante entre las formulaciones y control positivo.

Hipótesis alternativa, H_1: Al menos un tratamiento tiene diferente efecto cicatrizante.

Criterio de aceptación:

Pcalculada>Ptabulada= Se acepta hipótesis nula.
Pcalculada<Ptabulada= Se rechaza hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

Resultados:

Ptabulada: α= 0.05
Pcalculada: 0.005

De acuerdo al análisis de varianza de un factor, se obtuvo que Pcalculada<Ptabulada, rechazando la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alternativa que al menos un tratamiento tiene diferente efecto cicatrizante.

Test de TUKEY:

Se realizó el test de TUKEY para conocer que tratamientos son diferentes, procediendo a calcular el valor comparador de TUKEY o HSD, usando la fórmula: HSD=q*$\sqrt{\mathrm{CME/R}}$, donde: HSD: diferencia honestamente significativa; q: multiplicador o valor $q\alpha$ de la tabla de TUKEY; CME: cuadrado medio del error; R: número de repeticiones.

Se determinó un $q\alpha$ usando la tabla de valores críticos de TUKEY de 5.67, con 5 grados de libertad dentro de los grupos, 5% de significancia, 5 grupos de estudio y 2 mediciones por grupo. Se calculó el cuadrado medio del error con la fórmula: CME=SC/GL, usando los datos de suma de cuadrados y grados de libertad del análisis de varianza, siendo igual a 1.1, Se determinó un HSD de 4.20.

Tabla N°21: Comparación de los grupos de análisis.

	F1	F2	F3	CP	CN
F1		3	1	-2.5	4.5
F2			-2	-5.5	-7.5
F3				3.5	-5.5
CP					-2
CN					

F: formulación; Cp: control positivo; CN: control negativo.

Se determinó mediante el test de TUKEY que la formulación N°1 y N°2, son significativamente iguales al tener una diferencia de medias menor al valor HSD calculado, cicatrizando a los 10 y 7 días respectivamente, con diferencia de tres días a favor de la formulación N°2, es decir, que a pesar de que la formulación N°2 cicatrizó antes no hay gran diferencia entre dichos tratamientos.

De igual manera la formulación N°1 es significativamente igual a la formulación N°3 al cicatrizar a los 10 y 9 días, respectivamente, indicando similar actividad cicatrizante. La formulación N°1 y N°3 son significativamente igual al patrón de referencia, indicando un efecto cicatrizante similar entre los tratamientos.

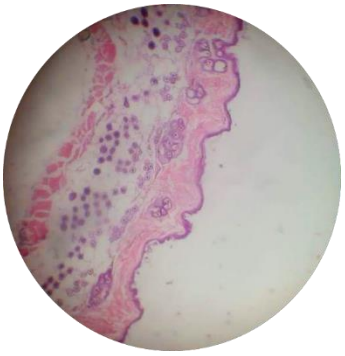
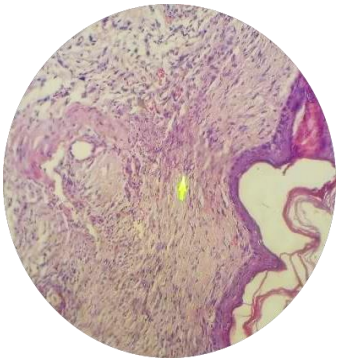
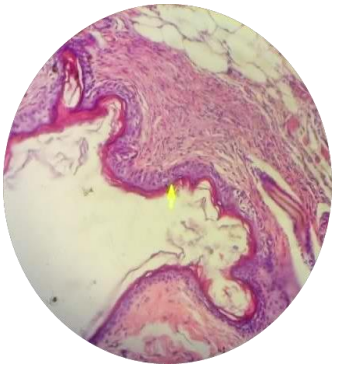
La formulación N°2 y el patrón de referencia son significativamente diferentes al tener una diferencia de medias mayor al valor HSD calculado, cicatrizando a los 7 y 12 días, respectivamente, indicando que la formulación N°2 redujo el tiempo de cicatrización en mayor proporción que el patrón de referencia, siendo la formulación más efectiva para tratar heridas.

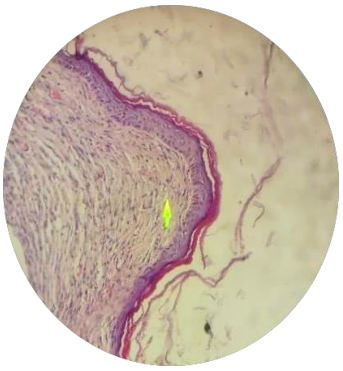
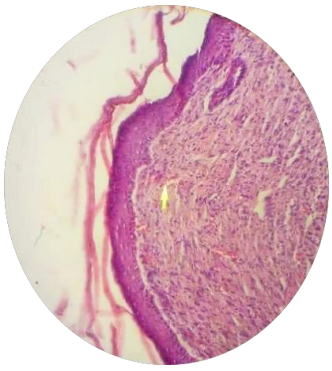
El control positivo es significativamente igual al control negativo, al tener una diferencia de medias menor al valor HSD calculado, cicatrizando a los 12 y 14 días respectivamente.

EL control negativo es significativamente diferente a las formulaciones a base de plantas medicinales, ya que no se aplicó ningún tratamiento inductor de la reepitelización de los tejidos.

Examen histopatológico en hámsteres sirio dorado:

Tabla N°22: Hallazgos histopatológicos generales.

Muestra	Examen Macroscópico	Examen Microscópico	Observación a 40X
Blanco	Elipse de piel con medidas de: Largo: 2.5 cm Ancho: 1cm Profundidad: 1mm Cicatriz: 2cm Color: Traslúcido	Tejido con integridad de epitelio, folículos pilosos y capas de la piel con distribución normal.	
CN	Elipse de piel con medidas de: Largo: 2.5 cm Ancho: 1cm Profundidad: 1mm Cicatriz: 2cm Color: Traslúcido	Estrato basal y granuloso no definido con moderada presencia de epitelio escamoso. Alta presencia de fibroblastos, células inflamatorias y vasos sanguíneos. Presencia moderada de fibras colágeno delgado.	
F1	Elipse de piel con medidas de: Largo: 2.5 cm Ancho: 1cm Profundidad: 1mm Cicatriz: 2cm Color: Traslúcido	Moderados neovasos con estratos de epidermis definidos. Alta presencia de fibroblasto, células inflamatórias. Presencia moderada de fibras colágeno delgado.	

F2	Elipse de piel con medidas de: Largo: 2.5 cm Ancho: 1cm Profundidad: 1mm Cicatriz: 2cm Color: Traslúcido	Estratos de la epidermis definidos. Moderada cantidad de neovasos cercanos a epidermis con baja presencia de fibroblastos y células inflamatórias. Alta presencia de fibras colágeno tipo I.	
F3	Elipse de piel con medidas de: Largo: 2.5 cm Ancho: 1cm Profundidad: 1mm Cicatriz: 2cm Color: Traslúcido	Neovasos cercanos a epidermis, estrato basal, granuloso y espinoso definido. Alta presencia de fibroblastos, células inflamatórias vasos sanguíneos y presencia moderada de fibras colágeno delgado.	
CP	Elipse de piel con medidas de: Largo: 2.5 cm Ancho: 1cm Profundidad: 1mm Cicatriz: 2cm Color: Traslúcido	Neovasos cerca de epidermis, estrato basal, granuloso y espinoso definido con epitelio escamoso, alta presencia de fibroblastos, vasos sanguíneos, células inflamatórias, presencia moderada de fibras colágeno delgado.	

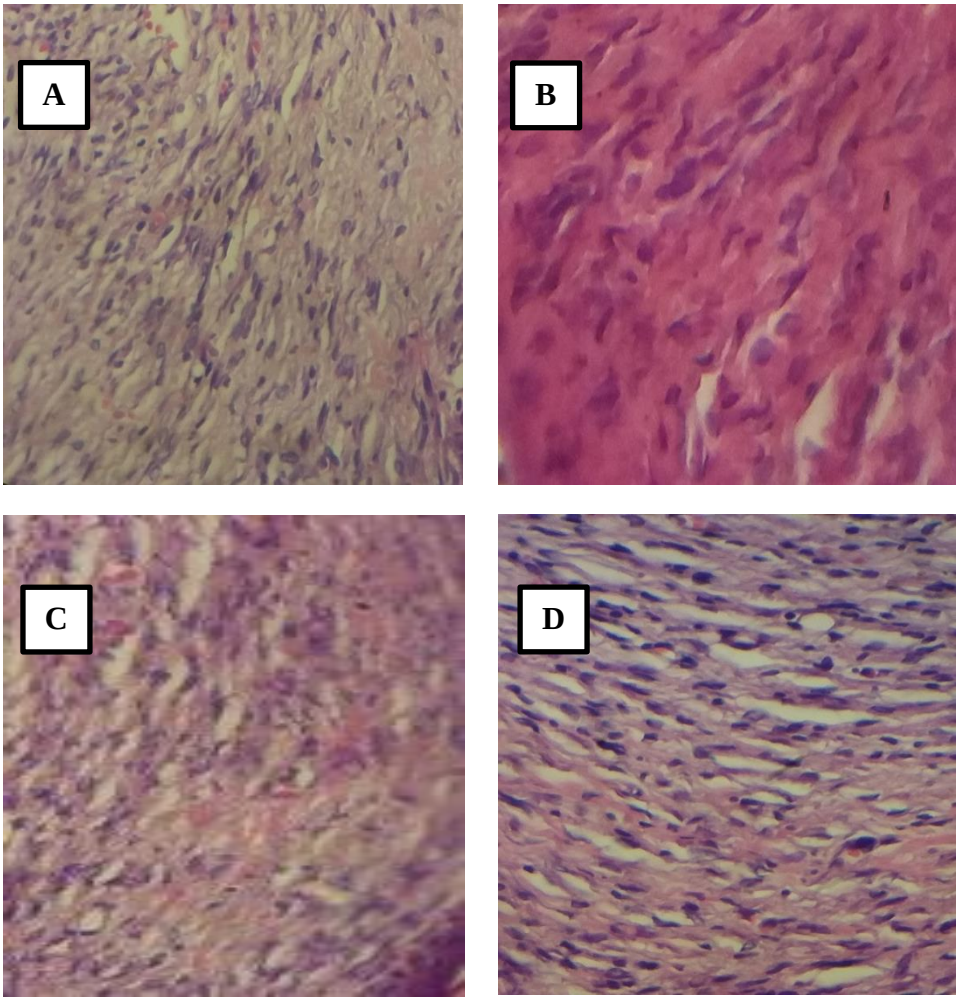
F: formulación; CP: control positivo; CN: control negativo.

El control negativo presentó poca regeneración epitelial a su vez mostró bajo desprendimiento del estrato córneo y poca neovascularizacion en comparación a los demás tratamientos. El control positivo presentó moderada regeneración y desprendimiento de estrato corneo encontrándose en fase proliferativa más avanzada que el control negativo.

Los tratamientos a base de especies vegetales presentaron a nivel histológico mejor etapa de regeneración del tejido epitelial con evidente desprendimiento de células queratinizadas del estrato corneo y restauración de la membrana basal de la epidermis, gran presencia de neovasos, alta presencia de fibras de colágeno delgadas y tipo I, moderada presencia de fibroblastos y pocas células inflamatorias.

Comparación histopatológica de los tratamientos:

Formación de colágeno, presencia de neovasos, fibroblastos y células inflamatorias:



A: Formulación N°1; B: Formulación N°2; C: Formulación N°3; D: Control positivo. Vista a 80X.

Se realizó una valoración de acuerdo al número de células vistas en las biopsias y se asignó un valor de acuerdo a la escala de valoración numérica visual (ENV) de 1-5, establecida por el investigador para comparar cada tratamiento.

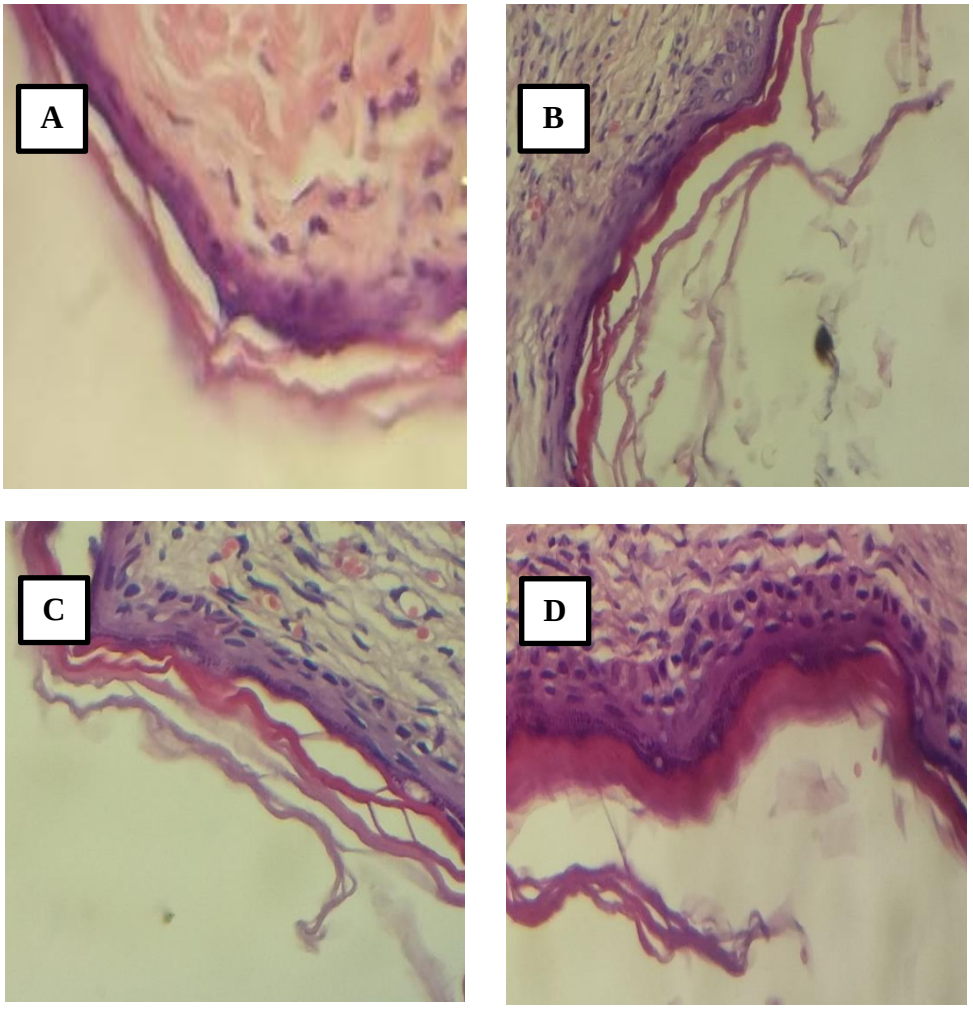
En base al análisis histopatológico el control positivo presentó mayor densidad de fibroblastos y células inflamatorias (5ENV) que la formulación N°1 (4ENV); formulación N°2 (1ENV) y formulación N°3 (3ENV), así como también mayor cantidad de vasos sanguíneos (5ENV) que la formulación N°1 (4ENV); formulación N°2 (2ENV) y formulación N°3 (3ENV).

La formulación N°2 presentó mayor densidad de fibras de colágeno tipo 1 gruesas (5 ENV), en comparación al control positivo (1ENV); formulación N°1 (2EVN) y formulación N°3 (3EVN) que presentaron fibras de colágeno delgadas.

Los hallazgos anteriores revelan que el control positivo se encuentra en una etapa retardada de cicatrización, es decir, presenta indicativos compatibles con la etapa proliferativa al tener alta densidad de fibroblastos, células inflamatorias y vasos sanguíneos, así como baja densidad de colágeno en comparación a las formulaciones a base de especies vegetales.

En cambio la formulación N°2 presentó menor número de células inflamatorias, fibroblastos, vasos sanguíneos y mayor densidad de fibras de colágeno tipo 1 gruesas, características predominantes de la fase de remodelación, etapa final de maduración de la cicatrización indicando mejor reconstrucción de la herida. Seguida de la formulación N°3 y N°1. En esta fase hay reducción de la densidad de macrófagos y fibroblastos al igual que se detiene la migración de factores de crecimiento desde los capilares y aumenta la fuerza de contracción del tejido por la formación y degradación de colágeno IV a colágeno tipo I que es la principal proteína que provee estructura, fuerza y rigidez al tejido dermal. (78)

Desprendimiento de células queratinizadas.



A: Formulación N°1; B: Formulación N°2; C: Formulación N°3; D: Control positivo. Vista a 80X.

Se asignó un valor de acuerdo a la densidad de células queratinizadas desprendidas del estrato córneo basado en la escala de valoración numérica visual (ENV) de 1-5. Se determinó que el control positivo presentó la menor densidad de células queratinizadas desprendidas (1ENV); formulación N°1 (2EVN); formulación N°2 (5EVN) y formulación N°3 (3EVN). La formulación N°2 obtuvo la mayor densidad de células queratinizadas desprendidas, indicando una rápida reepitelización debido a la mayor migración de células epidermales adyacentes a la herida, mayor actividad de factores de crecimiento endotelial, proliferación de queratinocitos que formaran la epidermis y la restauración del neoepitelio de la capa estratificada y basal. (78)

CONCLUSIONES:

- Las mejores condiciones de extracción droga/solvente y concentración de solvente de *Plantago major* y *Calendula officinalis* establecidas a través de la determinación de sólidos totales, se obtuvo mejores rendimientos en la relación droga/solvente 1:5 y mezcla hidroalcohólica al 50% para ambas especies vegetales medicinales.

- Los resultados obtenidos del control de calidad de los extractos fluidos referido a los parámetros organolépticos y fisicoquímicos se encuentran acorde a bibliografía consultada.

- Se eligió el gel placebo al 1%, el cual presentó las mejores características organolépticas y fisicoquímicas, seleccionado como base ideal, para posterior formulación final.

- Se realizó el control de calidad de los parámetros organolépticos y fisicoquímicos de las formulaciones finales, cumpliendo con los requisitos de calidad establecidos según bibliografía, siendo óptimos para su uso.

- Las formulaciones finales al 10, 15 y 20%, presentaron mejor efectividad cicatrizante en heridas cutáneas superficiales, cicatrizando a los 10, 7 y 9 días respectivamente, en comparación al gel de referencia que cicatrizó en 12 días, confirmado a través de un estudio histopatológico.

- Se rechazó la hipótesis nula y se acepta la alternativa, la cual estipula que el gel diseñado y formulado tiene mejor efectividad cicatrizante en comparación con ketanserina gel en heridas inducidas en Hámsteres sirio dorado.

RECOMENDACIONES:

A la Facultad de Ciencias Químicas:

- Realizar mantenimiento de los laboratorios regularmente para asegurar la correcta realización de las actividades experimentales.
- Adquirir equipos especializados y materiales que proporcionen datos de alta precisión y mayor confiabilidad.
- Capacitar a los estudiantes en el uso y manejo de animales de experimentación así como la correcta manipulación de los mismos.

A las futuras generaciones:

- Realizar estudio de estabilidad del gel elaborado a base de los extractos fluidos de *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis* mediante métodos analíticos para obtener datos del tiempo de vida útil, asegurando la completa estabilidad del producto terminado.
- Comprobar el efecto cicatrizante de los extractos fluidos en forma individual y realizar otras combinaciones en la formulación de los geles a diferentes concentraciones, determinando si presentan mejores resultados.
- Realizar estudio microbiológico del producto terminado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Fruto, C. (2012). *Diseño y preformulación de medicamentos*. Recuperado de http://farmacotecniafruto.blogspot.com/p/diseno-y-pre-formulacion-de-m e d i c a mentos.html.
2. Rockville, P.; Bethesda, M. (2003). *Cicatrices de la piel*. Recuperado de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1125033/.
3. Eugenio, L. (2009). *El reino vegetal, farmacología y terapéutica*. Recuperado de https://es.scribd.com/doc/19625218/Revista-Conocimiento-89.
4. Menéndez, B.; Parra, L.; Pavón, B.; Domínguez, C.; Martínez, B.; Sardiñas, G. & Muñoz, A. (2007). *Actividad cicatrizante y ensayos de irritación de una crema de Calendula officinalis al 1%.*Recuperado de http://www.latamjpharm.org/trabajos/26/6/LAJOP_26_6_02_GAH36SHDU7.pdf.
5. Barriga, A.; Flores, D. & Zulema, E. (2010)*. Efecto cicatrizante del Plantago major en heridas dérmicas estudiadas experimentalmente en cuyes*. Recuperado de http://www.buenastareas.com/ensayos/Efecto-Cicatrizante-Del-Llanten Plantago-Major/689152.html.
6. Coello, B. (2012). *Elaboración y control de calidad de gel cicatrizante a base de Aloe vera y Calendula officinalis.* Recuperado de http://dspace.espoch. edu.ec/bitstream/123456789/1997/1/56T00305.pdf.
7. Moscoso, A. (2012)*. Efecto antiinflamatorio y cicatrizante del extracto liofilizado de Aloe Vera en forma de gel farmacéutico.* Recuperado de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2591.
8. Redrobán, K. (2012). *Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Nasturtium officinale y Plantago major en ratones Mus musculus*. Recuperado de http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/ 2021/1/56T00316.pdf.
9. Lipinski, C.; Birgel, H.; Wouk, P. (2013). *Comparación del efecto cicatrizante por segunda intención de las especies vegetales Schinus therebintifolius y Calendula officinalis en cabras*. Recuperado de http://www.buiatriaecuador.org/files/MemTB09.%20LIPINSKI%20-% 2 0 C i c a t rizacion%20de%20piel.pdf.
10. Álvarez, L.; Luz, V. (2014). *Efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de Piper aduncum en lesiones inducidas en Oryctolagus cuniculus.* Recuperado de http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1604/Salazar%20Alvarez %2C%20Lorenzo%20Daniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
11. Gross, J. (2016). *El Aloe vera y sus propiedades*. Recuperado de https://indigohierbas.es/el-aloe-vera-y-sus-propiedades/.

12. Fernández, M. (2017). *Aloe vera y características*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Aloe_vera.

13. Balashon, H. (2011). *Plantas medicinales: Aloe vera*. Recuperado de http://www.elicriso.it/es/plantas_medicinales/aloe/.

14. Harper, D. (2013). *Aloe vera en el mundo*. Recuperado de http://aloevaro.blogspot.com/2013/06/el-aloe-en-el-mundo-que-tipos-de aloe. html.

15. Merck, L. (2016). *Estructura de Aloína*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Alo%C3%ADna.

16. Alvarado, A. (2011). *Estructura y función de los carbohidratos*. Recuperado de http://educaciondevienestar.blogspot.com/2011/08/la-estructura-y-funcion-de-los.html.

17. Chao, P. (2017). *Estructura de emodina, características*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Emodina.

18. Callejo, M. (2012). *Triterpenos pentacíclicos y sus efectos*. Recuperado de https://www.google.com/patents/WO2013068626A1?cl=es.

19. Gálvez, M. (2016). *Estructura y funciones del ácido p-cumárico*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_p-cum%C3%A1rico.

20. Budavari, S. (2016). *Acido cinámico, características*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_cin%C3%A1mico#/media/File:Cinnamicacid2.png.

21. Livezey, V. (2013). *El Plantago major y sus usos*. Recuperado de https://elvelodeisis.wordpress.com/2013/07/18/el-llanten/.

22. Gonzáles, F. (2015). *Plantago major, taxonomía*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Plantago_major.

23. Pichardo, J. (2004). *Plantago major*. Recuperado de http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/plantaginaceae/plantago-major/fichas/ficha.htm.

24. Fuentes, P. (2015). *Origen y distribución del Plantago major*. Recuperado de http://www.galeon.com/florindaguerrero/llanten.htm.

25. Blanco, B.; Saborío, A.; Garro, G. (2008). *Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de Plantago major*. Recuperado de https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4835550.pdf.

26. McLellan, M. (2015). *Estructura general de flavonoides*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Flavonoide.

27. Zeiger, E. (2016). *Estructura de alantoína*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Alanto%C3%ADna.

28. Fiuza, M. (2015). *Estructura de ácido gálico*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_g%C3%A1lico.

29. Hampton, S. (2015). *Calendula Officinalis.* Recuperado de http://mommycare.com.au/portfolio-items/calendula-*Calendula-officinalis*/.

30. Pacheco, P. (2016). *Características y propiedades de Calendula officinalis*. Recuperado de: http://www.elicriso.it/es/plantas_medicinales/calendula/.

31. Fiorrancio, C. (2014). *Origen y distribución de Calendula officinalis*. Recuperado de http://luirig.altervista.org/flora/taxa/index1.php?scientificname=calendula.

32. Chateauneuf, R. (2012). *Calendula officinalis, propiedades anticancerígenas y cicatrizantes extraordinarias*. Recuperado de http://www.rochade.cl/la-calendula-calendula-officinalis-gran-planta-medicinal-propiedades-anticancerigenas-y-cicatrizantes-extraordinarias-gran-antibacteria-antimicosa-y-antiviral/.

33. Yang, J. (2015). *Estructura de quercetina*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Quercetina.

34. Barroso, G. (2016). *Estructura de faradiol*. Recuperado de https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/122856.

35. Diarmuid, J. (2015). *Estructura de ácido salicílico*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_salic%C3%ADlico.

36. Prashar, I.; Locke, S. (2015). *Estructura de cariofileno*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Cariofileno.

37. Lucian, A.; Hubbe, M. (2016). *Estructura de ácido málico*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_m%C3%A1lico.

38. Ciampa, M.; Rondón, A. (2016). *Terapia tópica*. Recuperado de http://docplayer.es/15587951-Terapia-topica-definicion.html.

39. Goretti, M.; Abreu, F.; Oliveira, R. (2015). *Fitoterapia básica de la piel*. Recuperado de http://la-fitoterapia.blogspot.com/2013/06/fitoterapia-basica-de-piel-y-faneras.html.

40. Calvo, L. (2015). *Estructura de la piel*. Recuperado de http://html.rincondelvago.com/estructura-de-la-piel.html.

41. Rodríguez, A. (2011). *La piel como mecanorreceptora*. Recuperado de http://www.biopsicosalud.com.ve/2017/05/la-piel-como-mecanorreceptora.html.

42. Vallejos, S. (2016). *Composición química de la piel*. Recuperado de https://es.scribd.com/doc/226656923/Composicion-Quimica-de-La-Piel.

43. Salem, Z.; Pérez, A.; Henning, E.; Uherek, F.; Schultz, C. (2014). *Heridas: conceptos generales*. Recuperado de http://mingaonline.uach.cl /pdf/cuadcir/v14n1/art15.pdf.

44. Wang, G.; Tian, L.; Aziz, N. (2013). *Consolidación ósea y rehabilitación*. Recuperado de https://www.slideserve.com/phil/consolidaci-n-sea-y-rehabilitaci-n-2013.

45. Harvala, C.; Menounos, P.; Argyriadou, N. (2010). *Reparación: restitución, regeneración y cicatrización*. Recuperado de http://slideplayer.es/slide/158678/.

46. Abad, V.; Pinzón, G. (2009). *Los geles y sus características*. Recuperado de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Geles_5454.pdf.

47. Taylor, S. (2014). *Metil-p-hidroxibenzoato: propiedades*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Metil_p-hidroxibenzoato.

48. Aulton, E. (2013). *Propil-p-hidroxibenzoato: propiedade*s. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Propil_parahidroxibenzoato.

49. Edmund, M. (2014). *Generalidades del propilparaben*. Recuperado de https://www.cosmos.com.mx/wiki/3tvf/propilparabeno.

50. Darr, A. (2013). *Carbopol: propiedades*. Recuperado de http://www.molesybits.es/2013/01/la-quimica-del-tupe-de-imanol-arias-y-ii.html.

51. Cruz, A. (2012). *Ficha de información técnica del carbopol*. Recuperado de http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4080-2 1 d b a 5 2 a 9 2 9 d a8d93618ba5c8b06ea22ae9c2bab/main/files/Carbopol_y_Excipiente_Acofar_gel_carb__mero.pdf.

52. Klaus, H. (2014). *Trietanolamina: características*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Trietanolamina.

53. Cordero, L. (2015). *Ficha de información técnica de trietanolamina*. Recuperado de http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/7001-4 d 4 9 3 f 0 4 a 6 b 428f37d360a7e34da2f7591d1c4a1/main/files/Trietanolamina.pdf.

54. Benítez, J. (2106). *Propilenglicol: características*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Propilenglicol.

55. Alonso, P. (2014). *Ficha de información técnica de propilenglicol*. Recuperado de http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4257-d e c 0 5 2 5 9 5 2 d 9 1caba371957d3a73cdaa33233fb3/main/files/Propilenglicol.pdf.

56. Brogden, R.; Sorkin, E. (2012). *Ketanserina, mecanismo de acción, indicaciones, posología, farmacocinética y farmacodinamia*. Recuperado de http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/k008.htm.

57. Boada, M.; Colom, S.; Castelló, E. (2015). *La experimentación animal*. Recuperado de https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/80084/la_experimentacion_animal.pdf.

58. Escobar, R. (2002). *Modelos experimentales para la evaluación de la acción cicatrizante de medicamentos*. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152002000300008.

59. Yigit, N. & Kryštufek, B. (2016). *Hámster Mesocricetus auratus: morfología, anatomía*. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/*Mesocricetus_auratus*.

60. Fermín, H. (2014). *El hámster sirio dorado: características físicas, carácter*. Recuperado de http://mascotas.facilisimo.com/blogs/roedores/el-hamster-dorado-o-sirio_1073337.html.

61. Carpio, D. & Mora, L. (2016). *Evaluación del efecto antiinflamatorio del Plantago major en la forma de tintura, mediante la técnica del granuloma inducido por discos de algodón*. Recuperado de http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2440/1/tq1001.pdf.

62. Norma Ramal Ecuatoriana de control de calidad de fitofármacos, situación actual y aspectos importantes para su conservación. (1997). *Proyecto A1. Fitoterápicos: Droga Cruda. Especificaciones Generales*. Quito, Ecuador.

63. Norma Ramal Ecuatoriana de control de calidad de fitofármacos, situación actual y aspectos importantes para su conservación. (1997). *Proyecto A1. Fitoterápicos: Droga Cruda*. *Métodos de ensayo*. Quito, Ecuador.

64. Norma Ramal Ecuatoriana de control de calidad de fitofármacos, situación actual y aspectos importantes para su conservación. (1997). *Proyecto A1. Fitoterápicos: Extracto vegetal. Métodos de ensayo. Extractos fluidos y tinturas*. Quito, Ecuador.

65. Farmacopea de los Estados Unidos de América. (2007). *USP30-NF25. Vol.1*.

66. Martínez, R. (2013). *Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de Juglans neotrópica Diels, Urtica dioica y Aloe vera, en ratones Mus musculus*. Recuperado de http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/2568/1/56T010335.pdf.

67. Reglamento Técnico Centroamericano, RTCA 11.03.56:09 de productos naturales medicinales para uso humano, verificación de la calidad.

68. Paladino, S. & Zuritz, C. (2011). *Extracto de semillas de Vitis vinifera L. con actividad antioxidante: eficiencia de diferentes solventes en el proceso de extracción*. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1853-86652011000 100013.

69. Castro, J.; Baquero, L.; Narváez, C.; Cuenca, E. (2006). *Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasa de Acanthocereus pitajaya.* Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042006000100009.

70. Reyes, L. (2014). *Efecto de procesamiento sobre la estabilidad de polifenoles en extracto de Mangifera indica L*. Recuperado de https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/3374/1/AGI-2014-T038.pdf.

71. Ramírez, J.; Ordaz, P.; Morga, A.; Pereda V. (2015). *Determinación de actividad antioxidante en extractos acuosos de Aloysia triphylla*. Recuperado de http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/9/143.pdf.

72. Domínguez, F.; Hernández, I.; Vázquez, J.; Pérez, C. (2012). *El gel de Aloe vera: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria.* Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000100003.

73. Blanco, B.; Saborío, A.; Mongo, G. (2008). *Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de Plantago major*. Recuperado de http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/107.

74. Vega, A.; Aranda, M. (2014). *Calendula officinalis: Características, propiedades, beneficios*. Recuperado de http://hablemosdeflores.com/calendula/.

75. Vázquez, M.; Miguel, P.; Rodríguez, S.; Madeline, J.; Ojeda, M. (2010). *Calendula officinalis en el tratamiento tópico de la candidiasis vaginal recurrente*. Recuperado de http://www.redalyc.org/pdf/856/85615225005.pdf.

76. Vega, A.; Giovagnoli, C. (2014). *Ficha de información técnica de extracto de Aloe vera*. Recuperado de http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4042-e79c5d7b281fba3351e16cd514114a881cb59475/main/files/Aloe_vera_gel__1.1__sin_pulpa.pdf.

77. Vinson, J. (2014). *Características de extracto fluido de Plantago major*. Recuperado de http://cosmaten.es/home/324-ext-llanten-fluido.html.

78. Iturbide, R.; Hernández, C.; Valdés, J.; Aroesty, S.; Castillo, R.; González, H. (2013). *El trasplante autólogo de células mesoteliales como acelerador y modificador de la cicatrización cutánea en ratas*. Recuperado de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0376-78922013000100006.

79. Reglamento Técnico Centroamericano, RTCA 11.04.41:06 de productos naturales medicinales para uso humano, requisitos de etiquetado.

CRONOGRAMA:

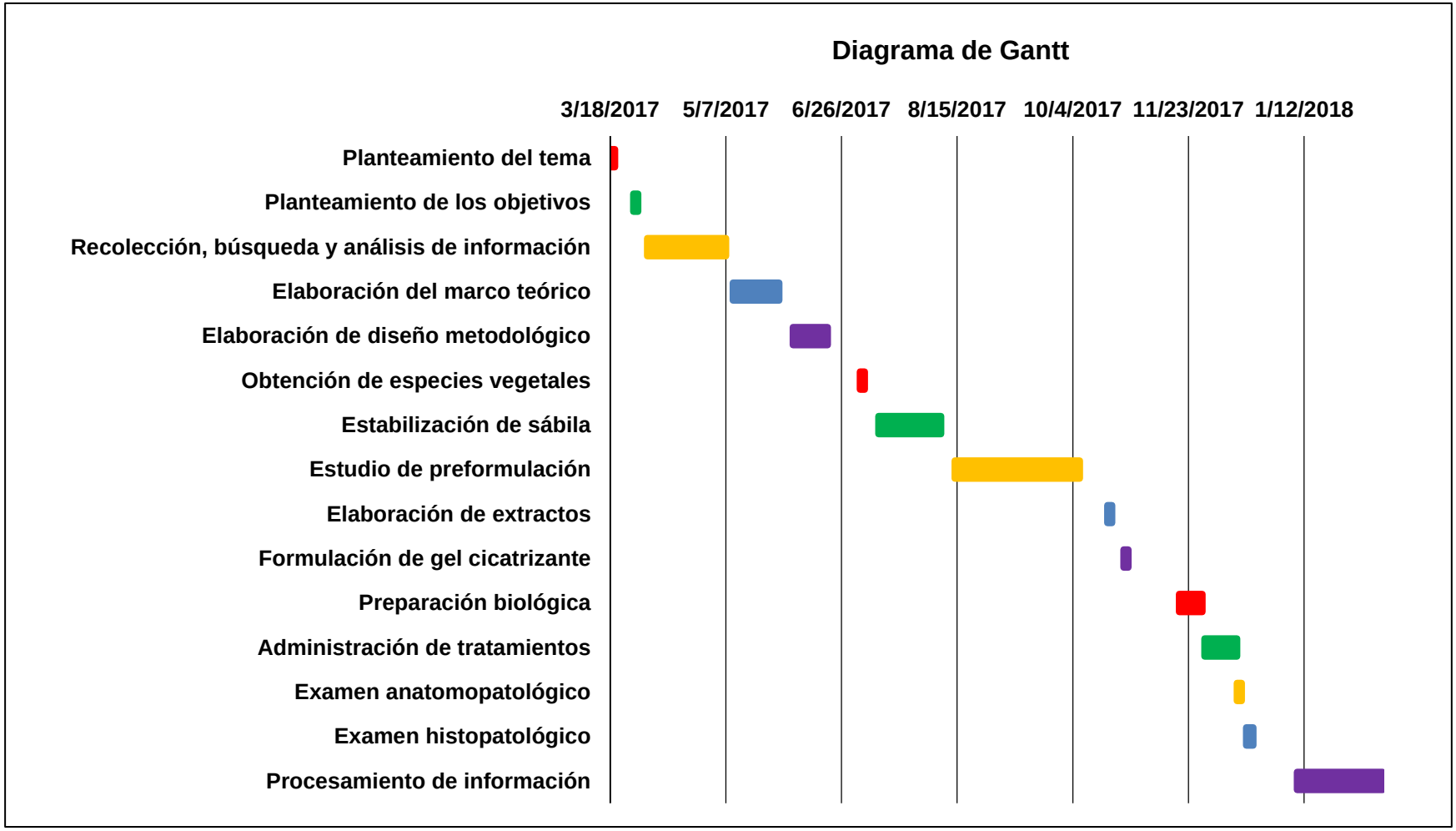
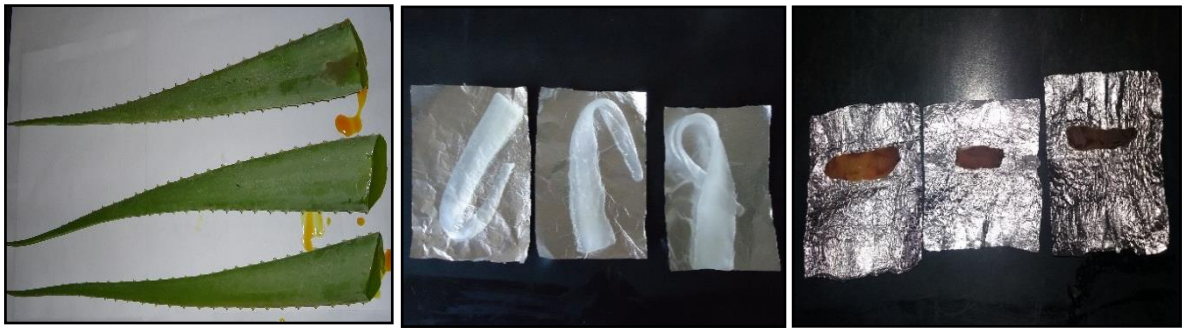


Diagrama de Gantt
3/18/2017
5/7/2017
6/26/2017
8/15/2017
10/4/2017
11/23/2017
1/12/2018
Planteamiento del tema
Planteamiento de los objetivos
Recolección, búsqueda y análisis de información
Elaboración del marco teórico
Elaboración de diseño metodológico
Obtención de especies vegetales
Estabilización de sábila
Estudio de preformulación
Elaboración de extractos
Formulación de gel cicatrizante
Preparación biológica
Administración de tratamientos
Examen anatomopatológico
Examen histopatológico
Procesamiento de información

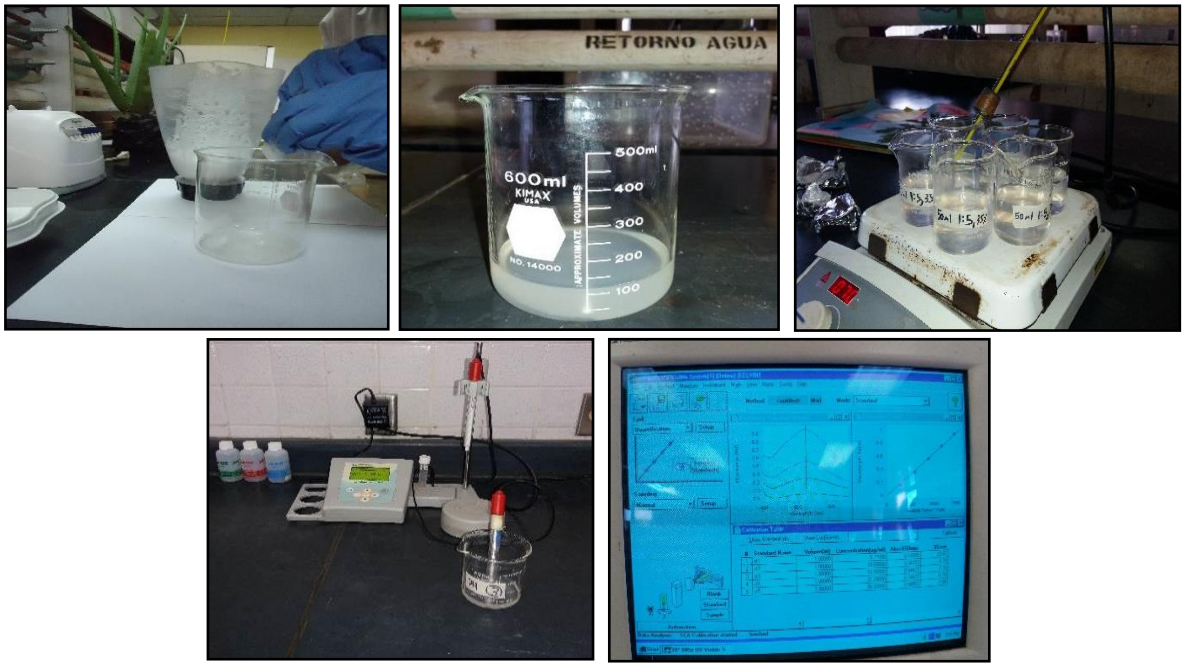
ANEXOS:

Anexo Nº1: Obtención de *Aloe vera*, *Plantago major* y *Calendula officinalis*.

Anexo Nº2: Deshidratación de *Aloe vera*.

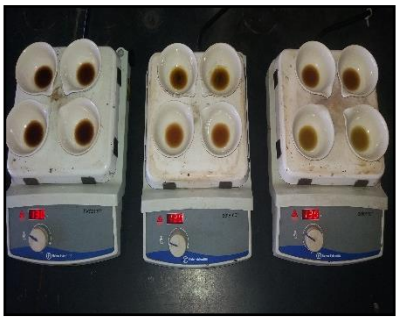


Anexo Nº3: Estabilidad de *Aloe vera*.

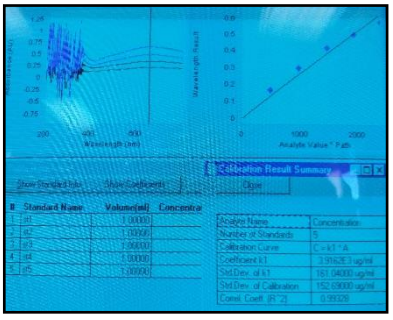


Anexo Nº4: Tamizaje fitoquímico.

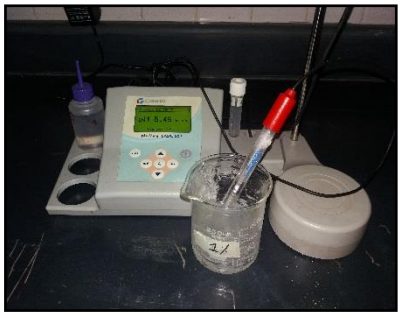
Anexo Nº5: Determinación de sólidos totales.

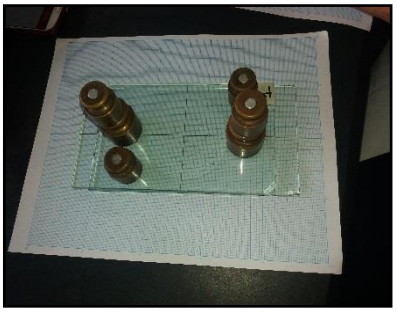


Anexo Nº6: Cuantificación de principios activos.

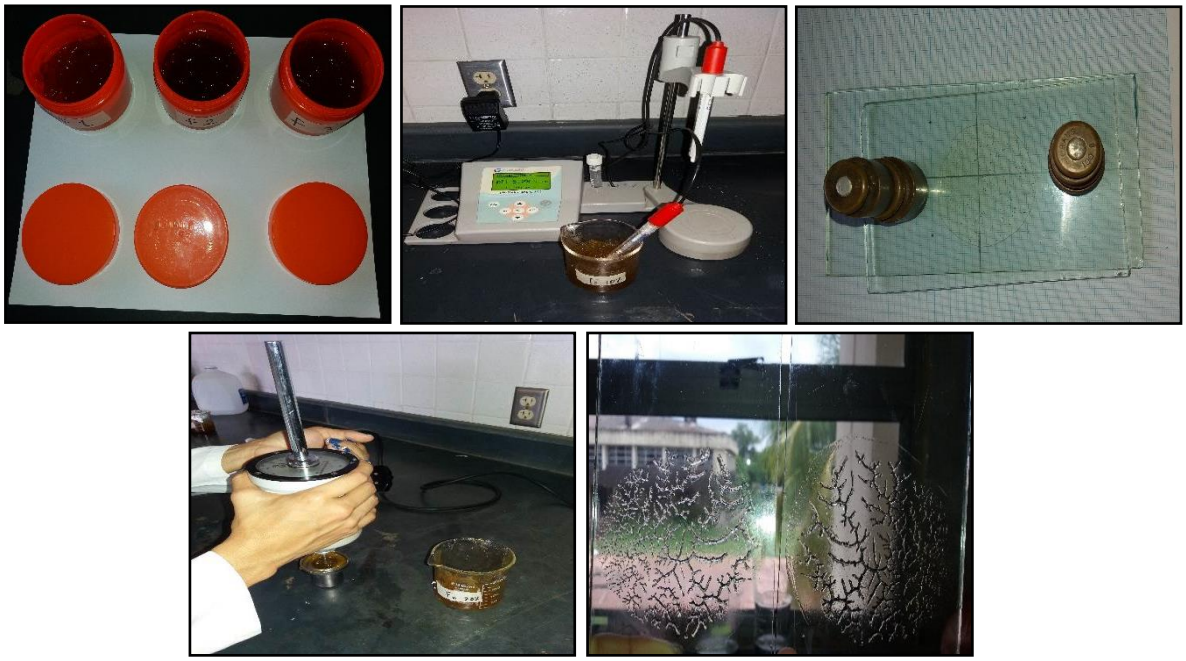


Anexo Nº7: Determinación de gel base ideal.



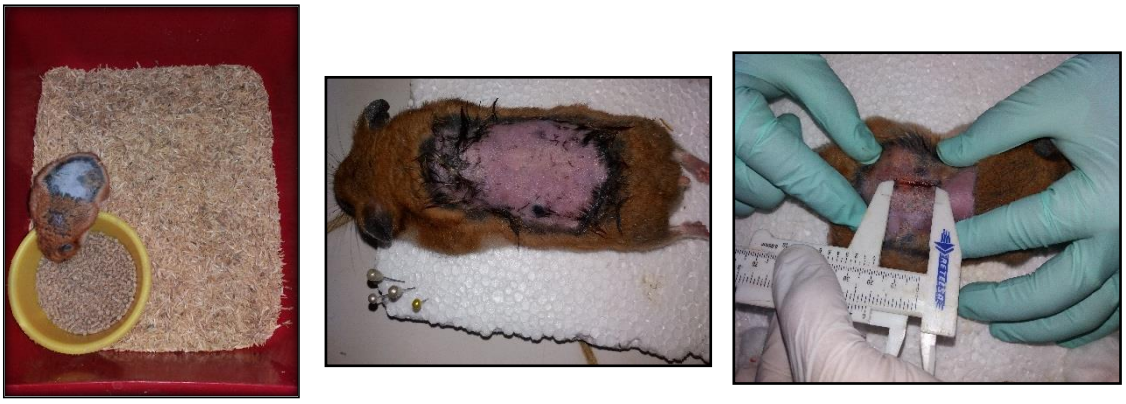


Anexo Nº8: Producto terminado y control de calidad.



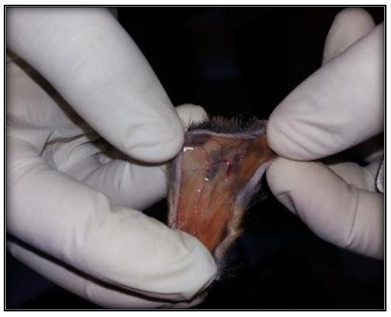
Anexo Nº9: Ambientación de hámsteres.

Anexo Nº10. Inducción de herida.

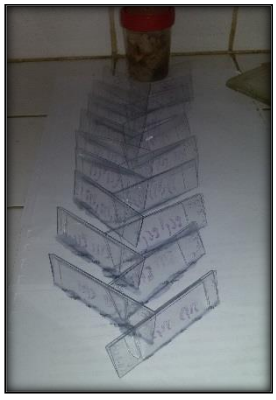


Anexo Nº11: Administración de tratamientos.

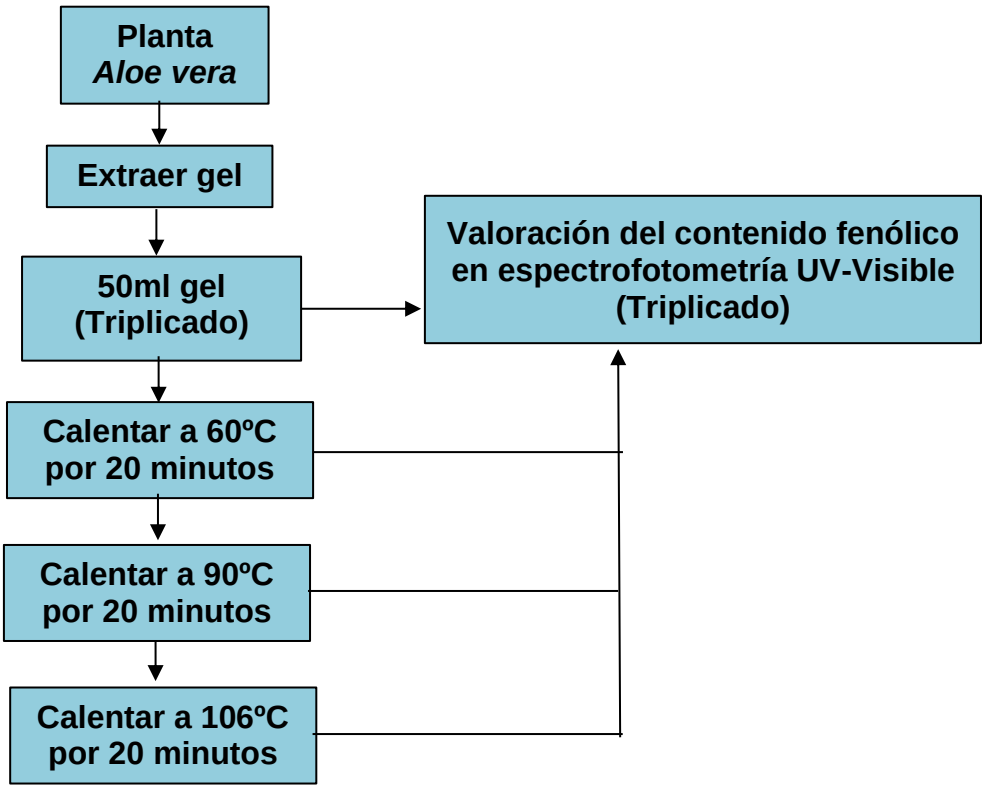
Anexo Nº12: Eutanasia de hámsteres.



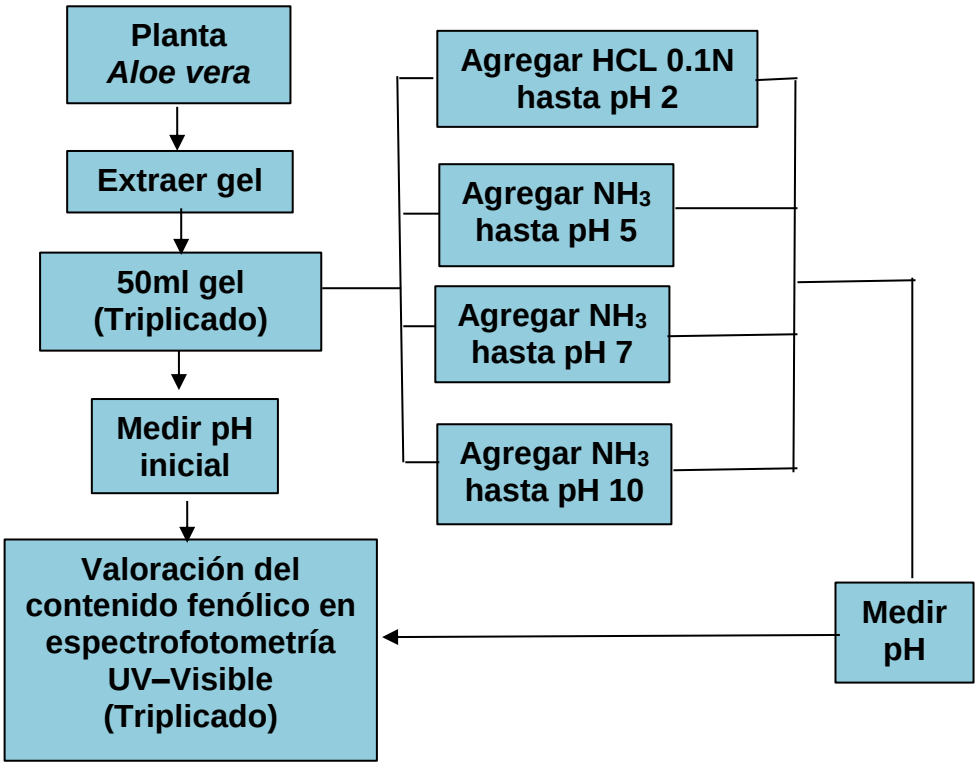
Anexo Nº13: Examen histopatológico.



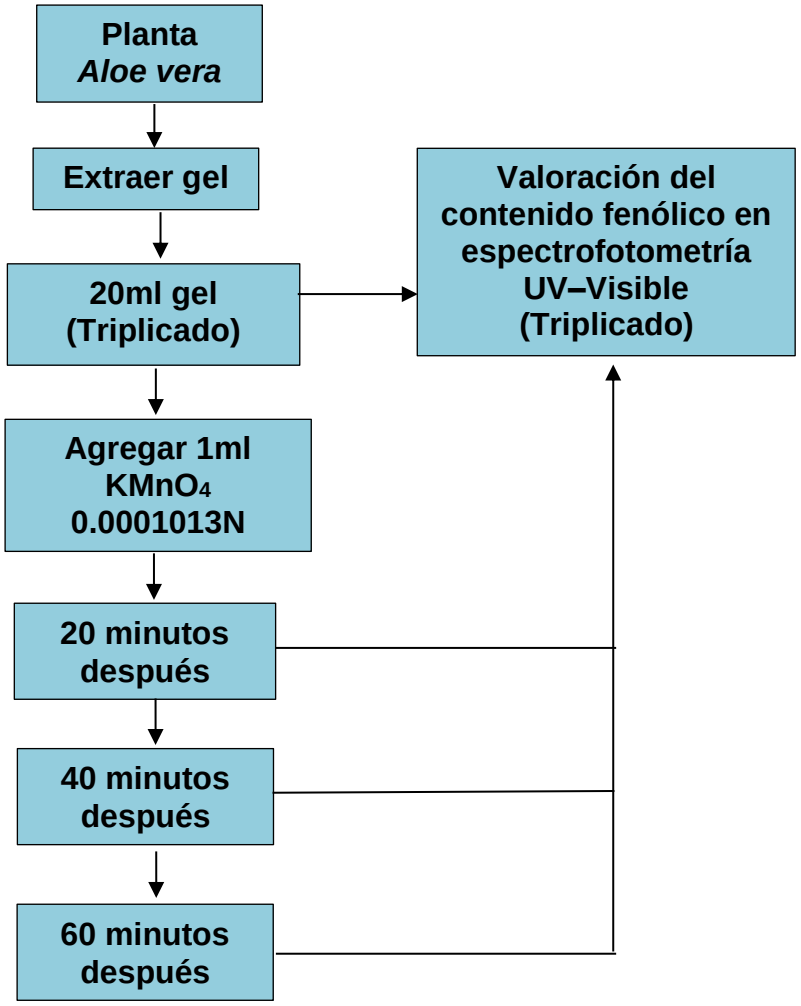
Anexo N°14: Estabilidad del gel de *Aloe vera* en relación a la temperatura.



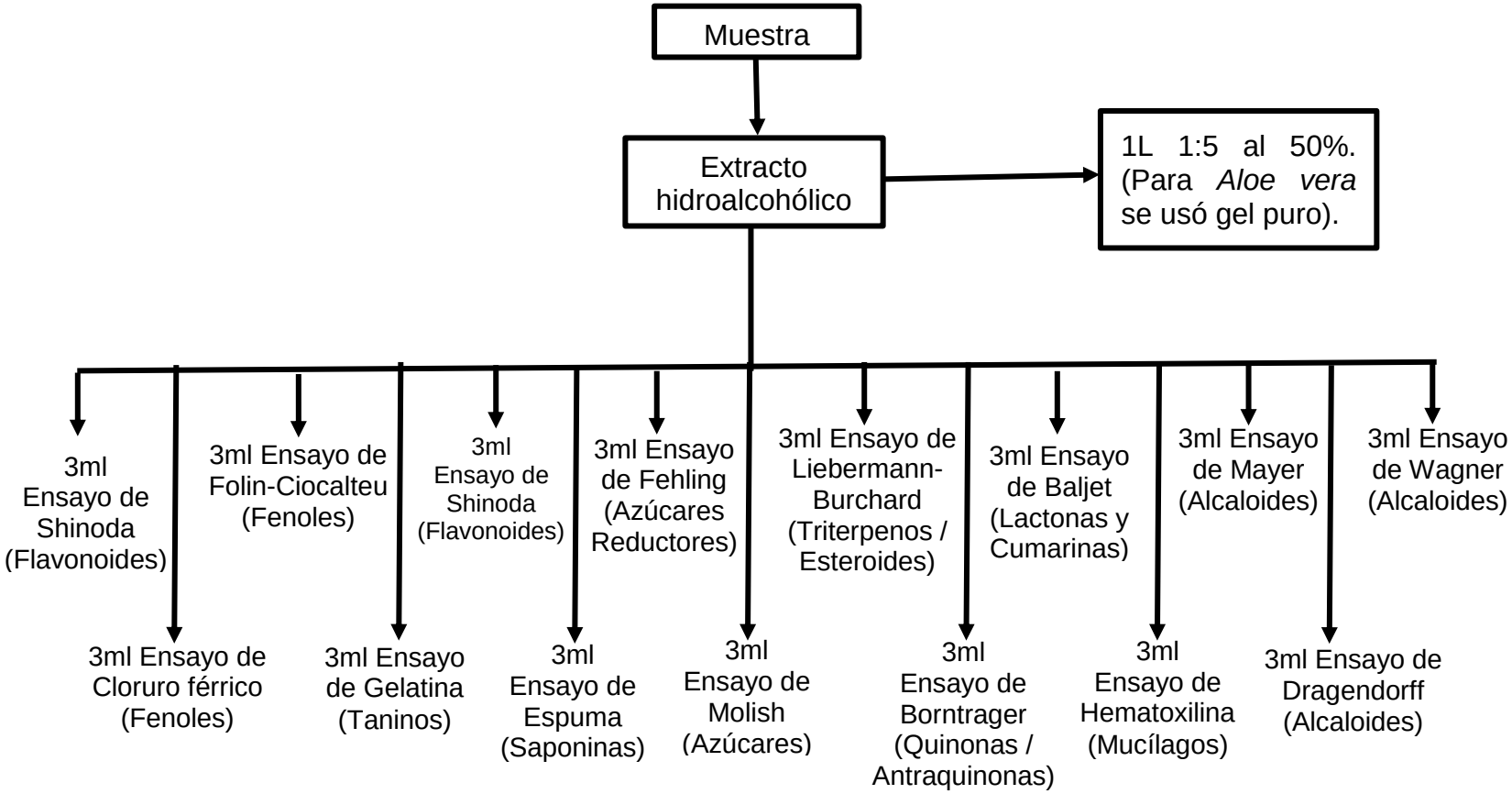
Anexo Nº15: Estabilidad del gel de *Aloe vera* en relación al pH.



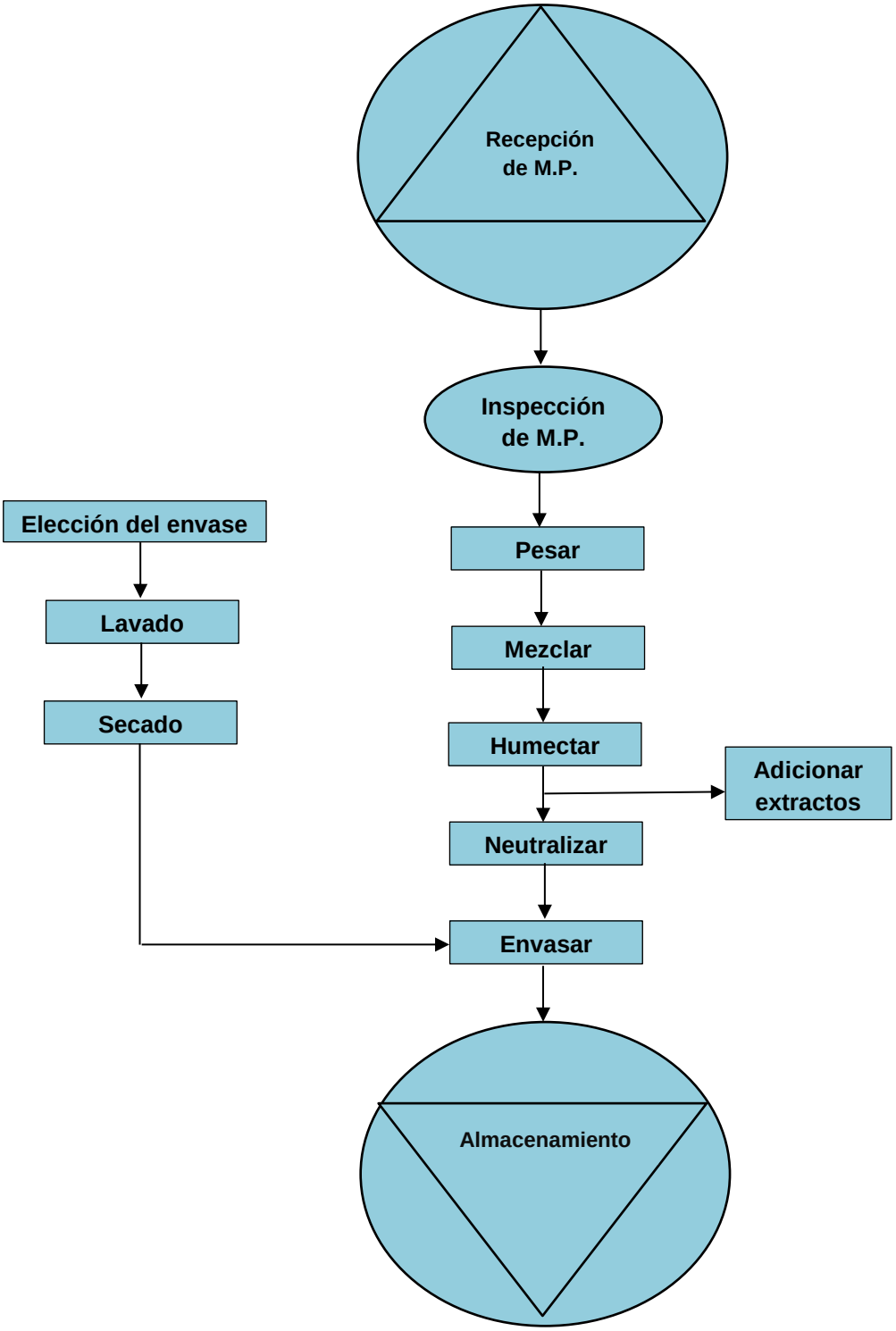
Anexo Nº16: Estabilidad del gel de *Aloe vera* en relación al tiempo.



Anexo N°17: Tamizaje fitoquímico.



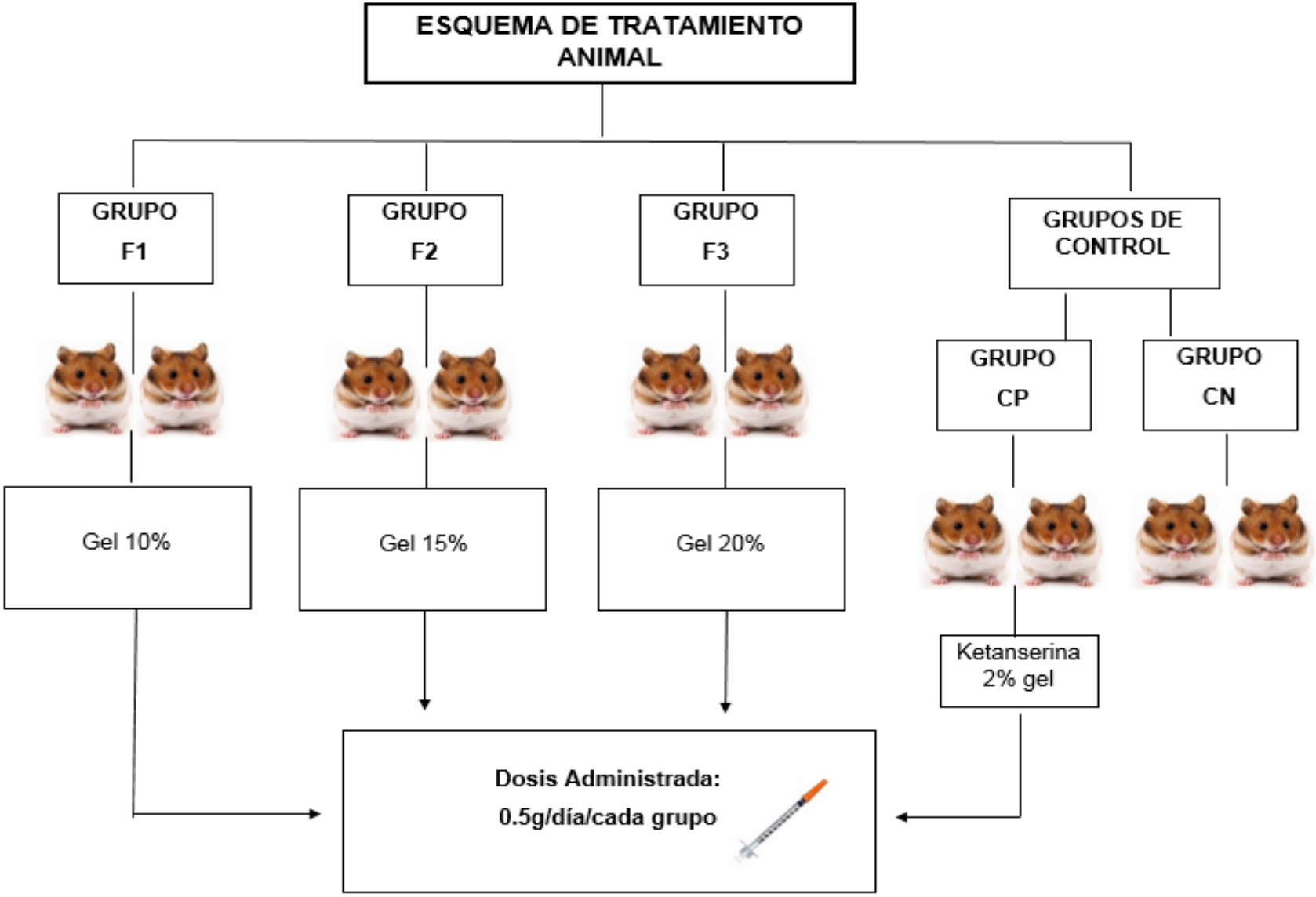
Anexo N°18: Flujograma de proceso de elaboración de gel cicatrizante.



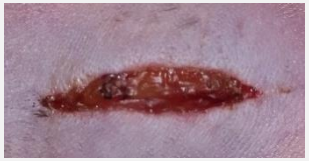
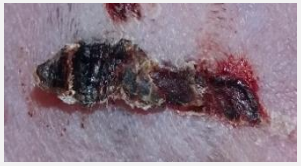
Anexo N°19: Peso de animales de experimentación.

Hámster	Peso inicial (gramos)	Peso final (gramos)	Variaciones de pesos (inicial/final)
1	115	113	-2g
2	106	106	-------
3	143	140	-3g
4	127	124	-3g
5	108	112	+4g
6	124	120	-4g
7	104	106	+2g
8	114	112	-2g
9	105	109	+4g
10	108	111	+3g

Anexo N°20: Tratamiento experimental.



Anexo N°21: Proceso de cicatrización de los tratamientos.

Tratamientos	Primer día de tratamiento	Costra formada	Levantamiento de costra	Proceso de cicatrización final
F1				
F2				
F3				
CP				
CN				

F: formulación; CP: control positivo; CN: control negativo.

Anexo Nº22: Ficha de recolección de información sobre la efectividad cicatrizante del gel.

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN – León
Facultad de Ciencias Químicas
Carrera de Farmacia

Fecha:_____ Hora:_____
Lugar:_____ Encargado:_____

Muestra	Blanco	Control positivo	Control negativo	F1	F2	F3
Tiempo de cicatrización						
Tiempo de formación de la costra						
Tiempo de caída de la costra						
Tipo de cicatrización						
Regeneración celular						
Elipse de piel						
Largo						
Ancho						
Profundidad						
Cicatriz						
Peso de la piel						
Color de la piel						
Descripción microscópica						

Anexo N°23: Producto terminado:

Etiqueta:

Fórmula cualicuantitativa:
***Aloe vera*: 0.13mg/ml de polifenol; *Plantago major*: 6.4mg/ml de taninos; *Calendula officinalis*: 19.5mg/ml de flavonoides.**
Excipientes csp…….. 100g
Lote: 00420
Fab: 12/10/2017
Venc: 12/10/2018
Reg.S. 2093948

Cicagel®

USO TÓPICO

Indicaciones: Heridas leves, raspaduras, quemaduras.

Aplicar dos veces al día.

Producto Centroamericano hecho en Nicaragua por Laboratorios VIDA VERDE, S.A.
Almacenar en un lugar fresco.

Manténgase fuera del alcance de los niños.

Logotipo superior:

Envase secundario:

Producto Centroamericano hecho en Nicaragua por Laboratorios VIDA VERDE, S.A.

Lote: 00420
Fab: 12/10/2017
Venc: 12/10/2018
Contenido neto: 100g

Fórmula cualicuantitativa:

***Aloe vera*: 0.13mg/ml de polifenol; *Plantago major*: 6.4mg/ml de taninos; *Calendula officinalis*: 19.5mg/ml de flavonoides.**

Excipientes csp…..100g

Reg.S. 2093948

Cicagel®

USO TÓPICO

Indicaciones: Aplicar en heridas leves, raspaduras, quemaduras.

Almacenar en un lugar fresco.

Manténgase fuera del alcance de los niños.

Cicagel®

USO TÓPICO