

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LOS
EXTRACTOS (FLUIDO Y GLICÓLICO) Y LA CREMA DE
ALOYSIA SPATHULATA (CHIQCHILLA) EN HERIDAS INCISAS
INDUCIDAS EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.
AREQUIPA-2012”**

Tesis presentada por los bachilleres:

LAZO BLANCO FERNANDA

HUAMÁN JARA ELIZABETH

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Asesor:

Dr. Benjamín Paz Aliaga

AREQUIPA – PERÚ

2013

AGRADECIMIENTOS

*Dr. Benjamín Paz Aliaga
A una gran persona y gran asesor.
Gracias por el apoyo brindado
En el presente trabajo.*

*Doctores del programa profesional
de farmacia y bioquímica por todo
el conocimiento y ejemplo q nos
sirvieron en toda nuestra
formación profesional.*

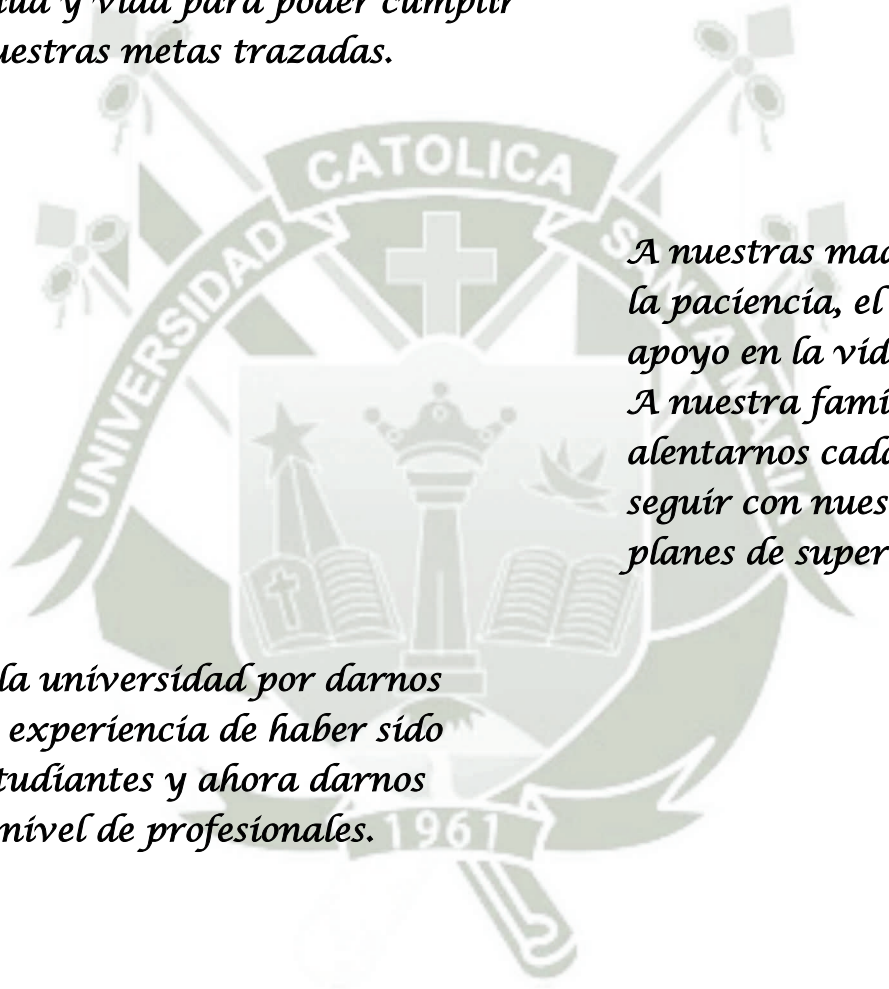
*Dr. Alberto Briceño Ortega
Mgr. Gaby Lozano
Dr. Fernando Torres.
Nuestro afectuoso agradecimiento
Por todos los concejos que nos
Sirvieron para culminar este trabajo.*

*Sr. Justo y Sra. Norma personal de
laboratorio que nos apoyaron en la
ejecución de este trabajo de
investigación.*

FERNANDA Y ELIZABETH

DEDICADO A:

*A Dios por estar siempre en
Cada paso guiándonos y dándonos
Salud y vida para poder cumplir
Nuestras metas trazadas.*



*A nuestras madres por
la paciencia, el amor y
apoyo en la vida diaria.
A nuestra familia por
alentarnos cada día a
seguir con nuestros
planes de superación.*

*A la universidad por darnos
La experiencia de haber sido
Estudiantes y ahora darnos
El nivel de profesionales.*

FERNANDA Y ELIZABETH

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	4
OBJETIVOS	5
1.1. GENERAL	5
1.2. ESPECÍFICOS	5
HIPÓTESIS	6
CAPÍTULO I	7
MARCO TEÓRICO	7
1.1. CHIQUILLA	7
1.1.1. NOMBRE CIENTÍFICO DE LA ESPECIE VEGETAL BAJO ESTUDIO	7
1.1.2. NOMBRES VULGARES	7
1.1.3. TAXONOMÍA	8
1.1.4. DESCRIPCIÓN	8
1.1.5. DISTRIBUCIÓN	8
1.1.6. ETNOMEDICINA	9
1.1.7. OTROS USOS	9
1.2. CICATRIZACIÓN DE HERIDAS	10
1.2.1. CONCEPTO	10
1.2.2. FASE INFLAMATORIA	11
1.2.3. FASE PROLIFERATIVA Y DE REPARACIÓN TISULAR	13
1.2.4. FASE DE REMODELACIÓN	17
1.2.5. RESISTENCIA DE LA CICATRIZ	18
1.2.6. FACTORES QUE MODULAN EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN	19
1.2.6.1 ESTADO NUTRICIONAL	19
1.2.6.2 DÉFICIT DE VITAMINAS Y MINERALES	19
1.2.6.3 DIABETES	20

1.2.6.4	OBESIDAD	20
1.2.6.5	OXÍGENO/PERFUSIÓN SANGUÍNEA	20
1.2.6.6	CORTICOIDES	21
1.2.6.7	QUIMIOTERAPIA/RADIOTERAPIA	21
1.2.6.8	INFECCIÓN	21
1.3.	EXTRACTOS	22
1.4.	CREMAS	23
1.4.1.	CARACTERÍSTICAS DE LOS EXCIPIENTES	23
1.4.2.	CLASIFICACIÓN DE LOS EXCIPIENTES	24
1.4.2.1.	EXCIPIENTES HIDRÓFOBOS	24
1.4.2.1.1	VASELINA Y PARAFINAS (HIDROCARBUROS SINTÉTICOS)	24
1.4.2.1.2	SILICONAS	26
1.4.2.1.3	CERAS	27
1.4.2.1.4	GLICÉRIDOS NATURALES Y SEMISINTÉTICOS	27
1.4.2.2	BASES DE ABSORCIÓN ANHIDRAS	28
1.4.2.2.1	LANOLINA Y DERIVADOS	29
1.4.2.3	EMULSIONES W/O	31
1.4.2.4	BASES DE EMULSIÓN O/W ANHIDRAS	33
1.4.2.5	EMULSIONES O/W	34
1.4.2.6	EXCIPIENTES HIDRÓFILOS	35
1.4.2.6.1	EXCIPIENTES ANHIDROS	36
1.4.3.	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE ELABORACIÓN DE EMULSIONES	37
1.4.3.1	OBJETIVO	37
1.4.3.2	RESPONSABILIDAD DE APLICACIÓN Y ALCANCE	37
1.4.3.3	DEFINICIONES	37
1.4.3.4	DESCRIPCIONES	38
1.4.3.4.1	FORMULA PATRÓN	38
1.4.3.4.2	MATERIAL Y EQUIPO	38
1.4.3.4.3	ENTORNO	38
1.4.3.4.4	MÉTODO PATRÓN	39
1.4.3.4.5	ACONDICIONAMIENTO	40

CAPÍTULO II	41
MATERIALES Y MÉTODOS	41
2.1.TIPO DE INVESTIGACIONACIÓN	41
2.2.DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	41
2.3.MATERIALES	42
2.3.1. MATERIAL BIOLÓGICO	42
2.3.1.1 MATERIAL VEGETAL	42
2.3.1.2 MATERIAL ANIMAL	42
2.3.2. MATERIAL DE LABORATORIO	43
2.3.2.1 MATERIAL DE VIDRIO	43
2.3.2.2 EQUIPOS	43
2.3.2.3 REACTIVOS	44
2.3.2.4 OTROS MATERIALES	45
2.3.3. PRODUCTOS FARMACÉUTICOS	45
2.3.3.1 CREMA CICATRIZANTE	45
2.3.3.1.1 NOMBRE COMERCIAL	45
2.3.3.1.2 COMPOSICIÓN DECLARADA	45
2.4. MÉTODOS	46
2.4.1. MÉTODOS DE FARMACOERGASIA	46
2.4.1.1 CULTIVO DE LA PLANTA MEDICINAL	46
2.4.1.2 COLECTA DE LA PLANTA MEDICINAL	46
2.4.1.3 SECADO LA DROGA	47
2.4.1.4 TRITURACIÓN	47
2.4.2. MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE CHIQUILLA	48
2.4.2.1 MÉTODO DEL SOXHLET	48
2.4.2.2 MÉTODO DE MACERACIÓN	49
2.4.3. MÉTODOS DE CONCENTRACIÓN DE EXTRACTOS	51
2.4.3.1 AL VACÍO	51
2.4.4. MÉTODOS FITOQUÍMICOS	51
2.4.4.1 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA	51
2.4.4.1.1 APLICACIÓN DE LA MUESTRA	52
2.4.4.1.2 DESARROLLO O CREACIÓN DE LA PLACA	52
2.4.4.1.3 UBICACIÓN DE LOS ANALITOS	53

2.4.4.1.4	FACTOR DE RETARDO	54
2.4.4.1.5	FASES MÓVILES Y REVELADORES A UTILIZAR	55
2.4.5.	MÉTODO PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE	56
2.4.5.1	MÉTODO TENSIOMÉTRICO	56
CAPÍTULO III		61
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		61
3.1.	RESULTADOS	61
3.2	AMBITO ESPACAL	68
3.3	AMBITO TEMPORAL	68
3.4.	DISCUSIÓN	79
CAPÍTULO IV		81
CONCLUSIONES		81
SUGERENCIAS		83
FUENTES BIBLIOGRÁFICAS		84
ANEXOS		88

RESUMEN

El objetivo general del presente trabajo de investigación es evaluar el efecto cicatrizante de los extractos fluidos y glicólico y la crema que los incluye, de las hojas de *Aloysia spathulata* conocida comúnmente como chiqchilla; sobre heridas incisas inducidas en animales de experimentación.

La metodología utilizada fue de calor seco una vez colectada la droga fue desecada, a través de una estufa de desecación, posteriormente se procedió a triturar. Una vez triturada la droga se procedió a obtener los extractos usando dos métodos distintos cada uno con diferente disolvente. Para el primer extracto se utilizó la maceración y como disolvente el propilenglicol; para el segundo extracto se utilizó la destilación con equipo Soxhlet con alcohol etílico como disolvente.

Con estos extractos se procedió a la realización de la marcha fotoquímica preliminar para determinar la naturaleza de los metabolitos secundarios presentes en la planta. La marcha fotoquímica preliminar se realizó mediante el método de cromatografía en capa fina, dando positivo para flavonoides, taninos y terpenos. Con estos extractos también se elaboraron las cremas. El tipo de crema elaborado fue una emulsión O/W con 20% de extracto.

Tanto los extractos y las cremas obtenidas fueron evaluados mediante el método tensiométrico, teniendo como medicamento de referencia o control positivo, una crema de Mucovit®.

La fuerza tensil que está directamente relacionada con la cicatrización se midió mediante gramos de arena obteniéndose los siguientes resultados dados en promedios para cada uno de los grupos de tratamiento: el grupo con crema base con 160.43g, el grupo control 143.78g, el grupo tratado con crema con extracto etanólico 239.71g, el grupo tratado con crema con extracto con propilenglicol 248.08g, el grupo tratado sólo con extracto etanólico 136.69g, el grupo tratado sólo con extracto

con propilenglicol 144.66g, y finalmente el grupo tratado con el medicamento de referencia fue de 247.24g.

Concluimos que habiendo evaluado el efecto cicatrizante observamos que las cremas con el extracto dieron mejores resultados que los extractos puros.

La conclusión del estudio preliminar del efecto cicatrizante del extracto y cremas con chiqchilla, fue que no se encontró diferencia significativa al 0.05 mediante pruebas de hipótesis entre los grupos tratados con las cremas con extracto etanólico y de propilenglicol al 20% y el grupo tratado con el preparado comercial denominado Mucovit®.



ABSTRACT

The overall objective of this research is to evaluate the healing effect of dry extracts and glycolic cream that includes leaves of *Aloysia spathulata* commonly known as chiqchilla; over incised wounds induced in experimental animals.

The methodology used was to dry heat drug once the drug collected was dried through a drying oven, then proceeded to crush. Once the drug is crushed proceeded to obtain the extracts using two different methods each with different solvent. For the first maceration extract was used propylene glycol as solvent and, for the second distillation extract was used with Soxhlet with ethanol as solvent.

These extracts proceeded to the completion of the preliminary phytochemical to determine the nature of secondary metabolites in the plant. The preliminary phytochemical method was performed using thin layer chromatography, giving positive flavonoids, tannins and terpenes. These extracts were also developed creams. The type of cream was prepared O / W emulsion containing 20% of extract.

Both extracts and creams obtained were evaluated by the method tensiometric, drug taking as reference or positive control Mucovit ® cream. The tensile strength is directly related cicatricación measured by grams of sand obtained the following averages for the treatment groups: the group with cream base with 160.43g, 143.78g control group, the group treated with ethanol extract cream 239.71 g, the group treated with propylene glycol extract cream with 248.08g, the group treated with ethanol extract 136.69g, the group treated with propylene glycol extract only 144.66g, and finally the group treated with the reference medicinal product was 247.24g.

We conclude that having evaluated the healing effect observed that the extract creams gave better results than pure extracts.

The conclusion of the preliminary study of the effect of the extract and healing creams chiqchilla was no significant difference at 0.05 by hypothesis testing between groups treated with ethanol extract creams and 20% propylene glycol and the group treated with commercial preparation called Mucovit ®.

INTRODUCCIÓN

El departamento de Arequipa como todos los departamentos de nuestro país, cuenta con una biodiversidad propia. Los pobladores no son ajenos a ella, y utilizan estos recursos para subsistir. La flora otorga muchas especies vegetales que son utilizadas como alimentos y recursos medicinales e incluso como materiales para vivienda, forraje, etc.

Uno de estos recursos vegetales es la chiqchilla, planta aromática que tiene como nombre científico *Aloysia spathulata*, considerada especie endémica de la ciudad de Cotahuasi perteneciente al departamento de Arequipa, y que los lugareños la utilizan como vulnerario en caso de heridas y llagas, al observar este uso y luego de revisar la bibliografía y los antecedentes disponibles para la mentada actividad de esta especie, no hubieron hallazgos que sustenten dicho uso.

La información acerca de esta especie resultó casi inexistente, esa fue la motivación para realizar el presente trabajo de investigación de tipo experimental, con el fin de evaluar mediante la metodología de investigación científica, haciendo uso de modelos experimentales y técnicas propias de Farmacia para el análisis y obtención de extractos y cremas, con el objetivo de evaluar esta actividad. De tal modo que el profesional de la salud conozca a través de este estudio a dicha especie y la población sepa los efectos reales de dicha especie.

OBJETIVOS

1.1. GENERAL

- Evaluar el efecto cicatrizante de los extractos (fluido y glicólico) y crema de hojas de *Aloysia spathulata* (chiqchilla) en heridas incisas inducidas en animales de experimentación.

1.2. ESPECÍFICOS

- Identificar los compuestos provenientes de metabolismo secundario que se encuentran en el extracto etanólico y glicólico de hojas de *Aloysia spathulata* (chiqchilla).
- Establecer cuál de los diferentes extractos (etanólico y glicólico) de las hojas de *Aloysia spathulata* (chiqchilla) presenta mayor eficacia sobre el proceso de cicatrización en heridas incisas inducidas en animales de experimentación.
- Diseñar la formulación de una crema con el extracto de las hojas de *Aloysia spathulata* (chiqchilla).
- Determinar la eficacia de la actividad cicatrizante de la crema con extracto de hojas de *Aloysia spathulata* (chiqchilla) en comparación con los extractos puros y una forma farmacéutica indicada para tratamiento de heridas.

HIPÓTESIS

Las hojas de *Aloysia spathulata* (chiquchilla) son usadas para tratar heridas, es probable que los extractos (fluido y/o glicólico) y la crema elaborada a partir de las hojas de esta planta muestren efecto cicatrizante en heridas incisas inducidas en animales de experimentación

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. CHIQUCHILLA

1.1.1.Nombre científico de la especie vegetal bajo estudio

Aloysia spathulata (Hayek) Moldenke. ⁽³⁷⁾

1.1.2.Nombres vulgares

“paray”, “chiqchilla”, “seqro” ⁽³⁷⁾

1.1.3.Taxonomía

Tipo: Fanerógamas

Subtipo: Angiospermas

Clase: Dicotyledoneae

Subclase: Metachlamydeae

Orden: Tubiflorae

Familia: Verbenaceae

Género: Aloysia

Especie: spathulata. ⁽²⁷⁾

1.1.4.Descripción

Arbusto de ramas cuadrangulares de 1-2 metros de altura y 0.80 m de cobertura. Hojas orbicular espatulado, obtuso, brevemente estrechado en un corto peciolo, 1-1.5cm de longitud, y 0.8 cm de ancho, crenado, nervoso-rugoso y menudamente escabroso-setuloso en el haz, pulverulento-tomentoso en el envés. Flor dispuesta en racimos erectos, delgados, laxos, raquis densamente pulverulento, bráctea lineal-lanceolada, escasamente más largo que el cáliz, éste de 2.5mm de longitud, algo inflados en el fruto, densamente corto-setoso. Corola púrpura subglabro. Fruto esquizocárpico. ⁽³⁷⁾

1.1.5.Distribución

Arbusto perenne que crece en pendientes rocosas, laderas de cerros, suelos arenosos, pedregosos, matorrales, bordes de caminos, carreteras desde los 2500-3300 msnm. ⁽³⁷⁾

1.1.6.Etnomedicina

Tradicionalmente el uso de esta planta es muy común entre los pobladores de Cotahuasi entre los principales beneficios que le atribuyen es el de cicatrizante que se realiza moliendo las hojas, aplicándolo como emplastro sobre la herida; también es usado en:

- Inflamación, hervir las ramas y con el agua lavar la parte inflamada.
- Diarrea, tomar mate de las ramas hasta que cese la diarrea. ⁽³⁷⁾

1.1.7.Otros usos

En la fabricación de canastas, como leña, como forraje para los animales y en la limpieza de sus casas con las ramas haciendo las veces de escoba. ⁽³⁷⁾

Figura N° 1: Chiqchilla (*Alysia sphenoloba*)

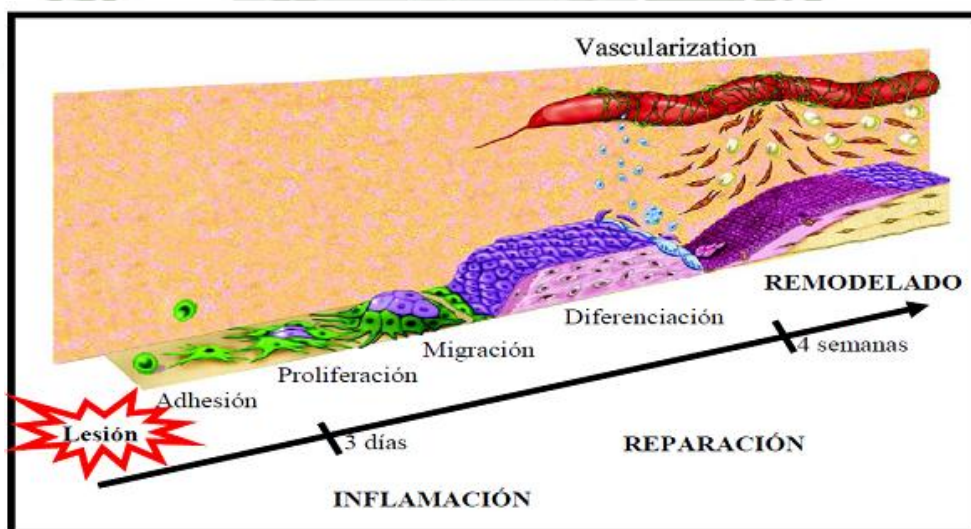


1.2. CICATRIZACIÓN DE HERIDAS

1.2.1. Concepto:

La cicatrización de las heridas representa una serie integrada y altamente dinámica e interactiva de procesos celulares y bioquímicos, constituyendo un complejo proceso biológico. Este proceso está dado mediante la reparación tisular y se lleva cabo mediante la formación de una variedad de tejido conjuntivo, denominado tejido de granulación el cual está constituido principalmente por la célula endotelial y el fibroblasto. En el caso de heridas cutáneas, el proceso de cicatrización conduce a la regeneración del epitelio y al remplazo de la dermis por un tejido fibroso, constituido fundamentalmente por colágeno con características diferentes al normal. ⁽³⁰⁾

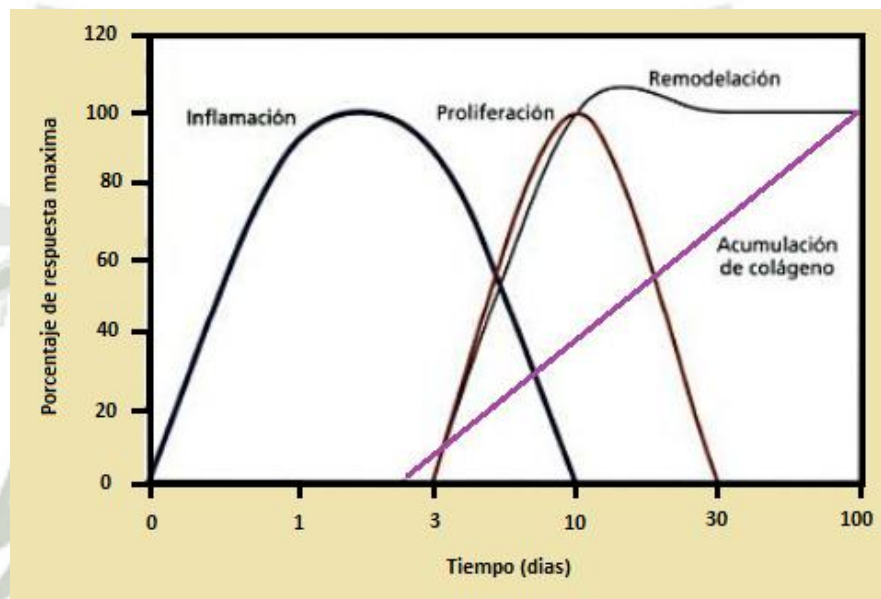
Figura N° 2: Fases de la Cicatrizacion



El proceso reparativo de heridas puede ser dividido en tres fases :

- Fase inflamatoria
- Fase proliferativa y de reparación tisular
- Fase de remodelación de la cicatriz. ⁽⁹⁾

Figura N°3: Correlación entre las distintas fases del proceso cicatrizal y respuesta máxima de cada una de ellas, con el tiempo de evolución en días.



1.2.2.Fase inflamatoria

Después del trauma, el primer período se inicia con la agregación plaquetaria y la activación de la cascada de coagulación. Los polimorfos nucleares son las primeras células infiltrantes que penetran en el sitio de la herida. El incremento de la permeabilidad vascular, la liberación local de prostaglandinas y la presencia de sustancias quimiotácticas, como los factores de complemento productos bacterianos que estimulan la migración de neutrófilos. ⁽³⁰⁾

La principal función propuesta para los neutrófilos es la fagocitosis de las bacterias y desechos tisulares. La segunda población de células inflamatorias que

invade la herida la constituyen los macrófagos, estos derivan de las monocitos circulantes, la principal función de los macrófagos además de su acción fagocitaria, es la activación e incorporación de otras células por la vía de mediadores como citocinas y factores de crecimiento, que estimulan la migración de fibroblastos, células epiteliales y endoteliales hacia la zona de la lesión.⁽³⁰⁾

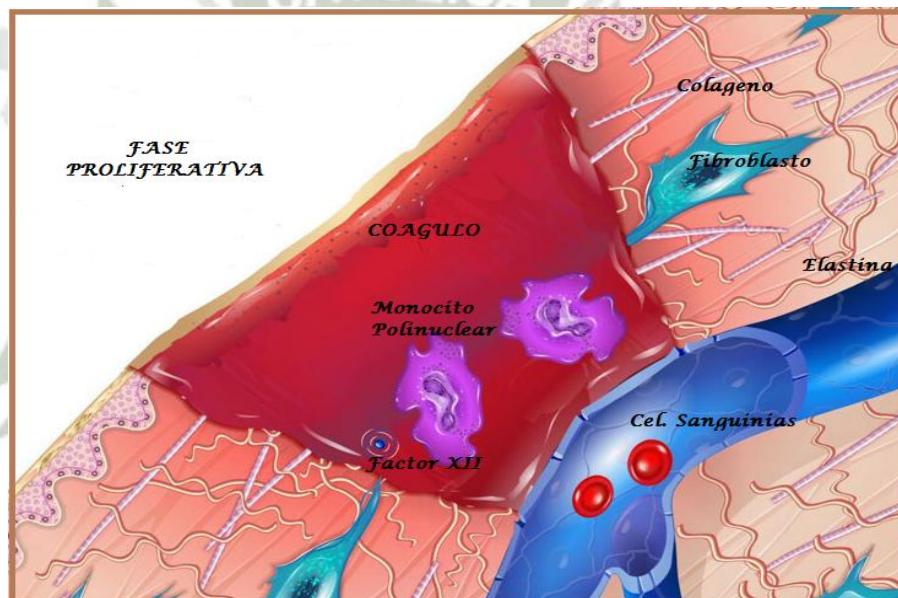
Los linfocitos T constituyen una población de células inflamatorias/inmunitarias y son las siguientes en aparecer en el lugar de la herida; Esta variedad de leucocitos, menos numerosos que los macrófagos, alcanzan sus cifras máximas alrededor de una semana después de la lesión y en realidad son un puente en la transición entre la fase inflamatoria y la fase proliferativa de la cicatrización.

Aunque se sabe que los linfocitos son esenciales para la cicatrización de la herida, su función aun no se define por completo. Un gran cúmulo de datos apoya la hipótesis que sostiene que los linfocitos T, tiene una participación activa en la modulación del ambiente de la herida. El agotamiento de la mayor parte de los linfocitos de la herida disminuye la fuerza y el contenido de colágeno de la misma, en tanto que la supresión selectiva del grupo CD8 de linfocitos T incrementa la cicatrización de la herida.⁽³⁰⁾

1.2.3. Fase proliferativa y de reparación tisular

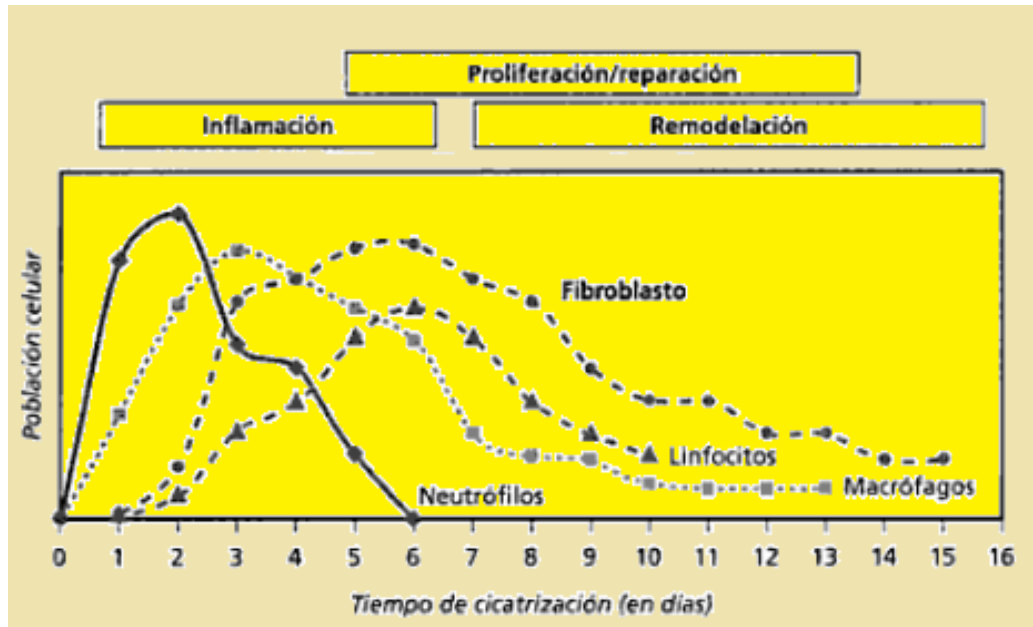
Durante esta fase la continuidad del tejido se restablece. Los fibroblastos y las células endoteliales son las últimas poblaciones celulares que infiltran la herida en cicatrización y el factor quimiotáctico más potente para fibroblastos es el PDGF. Tras penetrar en el ambiente de la herida, los fibroblastos reclutados necesitan proliferar primero y luego activarse para realizar su principal función de síntesis y remodelación de matriz. Esta acción es mediada en especial por las citocinas y los factores de crecimiento que los macrófagos de la herida liberan.⁽³⁰⁾

Figura N° 4: Fase Proliferativa



Los fibroblastos aislados de las heridas sintetizan más colágeno que los que no provienen de las heridas, proliferan menos y efectúan de modo más activo la contracción de la matriz. Aunque es claro que el ambiente de la herida abundante en citocinas tiene una función importante en esta activación. La principal función de los macrófagos es la activación e incorporación de otras células por la vía de mediadores como citocinas y factores de crecimiento, y también en forma directa por interacción entre célula y moléculas de adhesión intercelular.⁽³⁰⁾

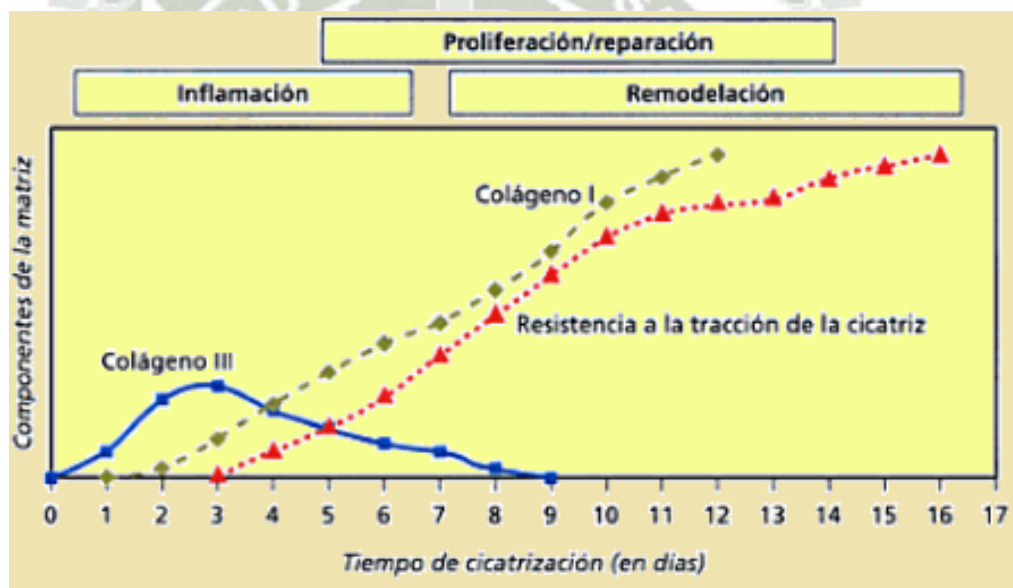
Figura N°5: Proliferación de las distintas estirpes celulares a lo largo del proceso cicatrizal.



La segunda fase es conocida como proliferativa de la cicatrización de heridas y en general abarca de los días 4 a 12. Durante ella la continuidad del tejido se restablece. Los fibroblastos y las células endoteliales son las últimas poblaciones celulares que infiltran la herida en cicatrización y el factor quimiotáctico más potente para fibroblastos es el PDGF. Tras penetrar en el ambiente de la herida, los fibroblastos reclutados necesitan proliferar primero y luego activarse para realizar su principal función de síntesis y remodelación de matriz. Esta acción es mediada en especial por las citocinas y los factores de crecimiento que los macrófagos de la herida liberan. ⁽³⁰⁾

Los fibroblastos aislados de las heridas sintetizan más colágeno que los que no provienen de heridas, proliferan menos y efectúan de monoactivo la contracción de la matriz. Aunque es claro que el ambiente de la herida abundante en citosina tiene una función importante en esta alteración y activación fenotípicas, los mediadores exactos solo están caracterizados en parte. Además, el lactato, que se acumula en cantidades importantes en el ambiente de la herida con el tiempo, es un regulador potente de la síntesis de colágeno mediante un mecanismo que incluye ADP- ribosilación.⁽³⁰⁾

Figura N°6: Relación entre componentes de la matriz extracelular y fases del proceso cicatrizal.



Las células endoteliales también proliferan en forma extensa durante la fase de cicatrización. Estas células participan en la formación de nuevos capilares, un proceso esencial para el éxito en la cicatrización de la herida. Las células endoteliales migran de vénulas intactas cerca de la herida. ⁽³⁰⁾

Su inmigración, replicación y nueva formación de túbulos capilares están influidas por citosinas y factores de crecimiento como TNF- α (factor de necrosis tumoral alfa), TGF - β (factor beta de transformación del crecimiento) y VEGF, los macrófagos representan una fuente mayor en la herida, en cicatrización y en las células endoteliales se localizan en específico receptores de VEGF. ⁽³⁰⁾

La dermis está compuesta predominantemente de colágeno I (del 80-90%) y colágeno III (del 10 al 20%). En el tejido de granulación, el colágeno de tipo III aumenta (30%), en tanto que en la cicatriz madura dicho colágeno es más bien escaso (20%). En general la síntesis neta de colágeno aumenta como mínimo cuatro a cinco semanas después de ocurrir la lesión, siendo la resistencia tensil de la cicatriz directamente a la síntesis del mismo. ⁽³⁰⁾

1.2.4.Fase de remodelación

En este período, la remodelación de la cicatriz se inician durante la fase fibroplastica y se caracterizan por una reorganización del colágeno sintetizado con anterioridad. El colágeno se cataboliza mediante metaloproteinasa de matriz (MPM) y el contenido neto de colágeno de la herida es el resultado de un equilibrio entre la colagenolosis y la síntesis de colágeno. Ocurre un cambio neto hacia la síntesis de colágeno y por último al restablecimiento de la matriz extracelular compuesta por una cicatriz rica en colágeno hasta cierto punto acelular.⁽¹³⁾

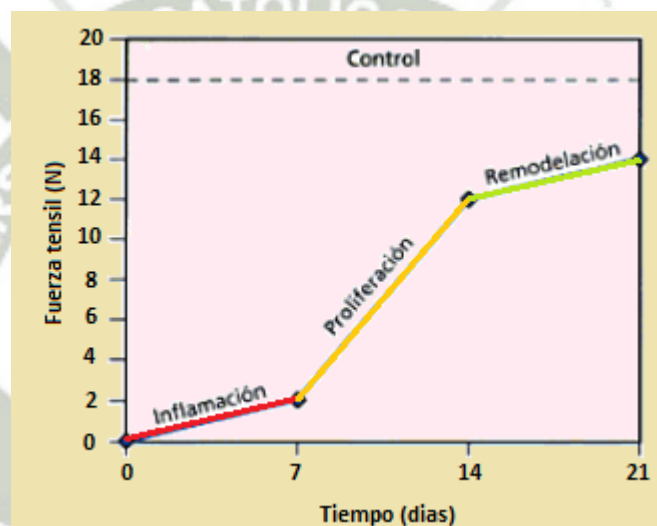
Tanto la calidad como la cantidad del colágeno recién depositado determinan la fuerza y la integridad mecánica de una herida reciente. El depósito de matriz en el sitio de la herida sigue un patrón característico: la fibronectina y el colágeno tipo III constituyen a la estructura temprana de la matriz; los glucosaminoglucanos y los proteoglucanos representan los siguientes componente importantes de la matriz, y el colágeno tipo I es la matriz final.⁽¹³⁾

La cantidad de colágeno en la herida llega a una meseta, varias semanas después de la lesión, pero la fuerza de tensión continua en aumento durante varios meses más, la formación de fibrillas y el enlace cruzado de las mismas disminuye la solubilidad del colágeno e incrementa la fuerza y la resistencia a la degradación enzimática de la matriz de colágeno. La remodelación de la cicatriz continua durante muchos meses (6-12) después de la lesión y tiene como resultado la formación gradual de una cicatriz madura, avascular y acelular. La fuerza mecánica de la cicatriz nunca iguala la del tejido lesionado.⁽¹³⁾

1.2.5. Resistencia de la cicatriz

La medición de la capacidad biomecánica de una cicatriz se lleva a cabo realizando mediciones de la resistencia a la tracción, o bien la resistencia a la rotura o “estallido” (*bursting strength*). La primera mide la carga necesaria por área de sección transversal para provocar la rotura; la segunda mide la carga requerida para abrir o romper la zona cicatrizal en cualquier dimensión. ⁽³⁰⁾

Figura N°7: Fuerza tensil (expresada en Newtons) de la cicatriz en las distintas fases de la cicatrización



La resistencia de la herida incisa comienza inmediatamente después de la sutura primaria de la misma. A las cuarenta y ocho horas, la resistencia a la rotura a nivel experimental en piel de rata es de 50-100 g por centímetro lineal. Con el tiempo, y hasta el año, la resistencia va aumentando progresivamente, aunque nunca se llegan a alcanzar valores similares a los controles. ⁽³⁰⁾

1.2.6. Factores que modulan el proceso de cicatrización

Existe una serie de factores de orden general y local que pueden modificar el proceso biológico de la cicatrización normal, y tienen una relevancia especial en pacientes quirúrgicos. No debemos olvidar que casi un 50% de las complicaciones que presenta un enfermo quirúrgico depende o está bien en relación con la herida operatoria, y por lo tanto con el propio fenómeno cicatrizal. ⁽³⁰⁾

Estos factores se enumeran a continuación.

1.2.6.1 Estado Nutricional

En la especie humana se requiere un importante déficit proteico para que se presenten trastornos de la cicatrización, y la pérdida de peso aguda tiene que situarse entre un 15-20% para entorpecer el proceso cicatrizal. Numerosas experiencias confirman que el déficit proteico se manifiesta a través de la disminución de colágeno total y de hexosamina. ⁽¹⁰⁾

En la cicatrización se requieren todos los aminoácidos esenciales para una correcta síntesis proteica. Los suplementos dietéticos con concentraciones altas de arginina mejoran la cicatrización de heridas. ⁽¹⁰⁾

1.2.6.2 Déficit de vitaminas y minerales

El más importante es el relacionado con la vitamina C, necesaria para que se realice una correcta hidroxilación de prolina y lisina. Sin ella, y al no existir hidroxiprolina, no hay transporte extracelular del colágeno sintetizado, y además no se produce el entrecruzamiento de la fibrillas de colágeno, que conduce a la formación final de la molécula del mismo. En este último mecanismo también interviene la vitamina B₆. ⁽³⁰⁾

Se ha observado que la vitamina A en pacientes tratados con corticoides revierte el efecto negativo de los mismos. ⁽²⁴⁾

Algunos oligoelementos, como el zinc y el cobre, cuando son deficitarios pueden alterar el proceso cicatrizal; sobre todo el primero, que interfiere en la reepitelización. ⁽³⁰⁾

1.2.6.3 Diabetes

Los pacientes diabéticos sin control de la homeostasis glucídica sintetizan menos cantidad de colágeno. Por ello, el proceso cicatrizal es lento. Además, la insulina es necesaria para la actividad de los fibroblastos, favoreciendo en general la proliferación celular. ⁽³⁰⁾

1.2.6.4 Obesidad

En los obesos hay menor tensión en el lugar de la herida. También son más frecuentes la necrosis de grasa y el déficit de riego sanguíneo. Todo ello aumenta el riesgo de infección, que termina por alterar todo el mecanismo cicatrizal.

1.2.6.5 Oxígeno/perfusión sanguínea

En toda cicatriz, para que todo el proceso biológico se realice en condiciones óptimas, se necesita presencia de oxígeno y un buen riego sanguíneo. La isquemia, en general, detiene el proceso cicatrizal. También las situaciones de anemia son causantes de déficit en el proceso cicatrizal, por una disminución obvia de la transferencia de hemoglobina a los tejidos. Estudios experimentales han demostrado que la colocación de las heridas en situaciones óptimas de oxigenación (cámaras hiperbáricas) aumenta la rapidez del proceso reparativo, ya que se intensifica la síntesis de colágeno. ⁽³⁰⁾

1.2.6.6 Corticoides

La administración de corticoides inhibe la respuesta inflamatoria, y por ello el proceso de migración celular; interfieren con la epitelización y la síntesis de colágeno de la herida. ⁽³⁰⁾

1.2.6.7 Quimioterapia/radioterapia

Estos dos factores ejercen sus efectos sobre el proceso de división celular. En un proceso como la cicatrización, en donde la respuesta celular tiene que ser máxima por parte de los tejidos, cuando se administra quimioterapia o radioterapia la división celular se ve interferida, lo que conlleva un retraso del proceso reparativo. ⁽³⁰⁾

1.2.6.8 Infección

Es el factor local más importante de los que interfieren el proceso cicatrizal, debido a la disminución de la actividad fibroblástica, al aumento de la actividad proteolítica y a la alteración del proceso de angiogénesis. ⁽³⁰⁾

1.3. EXTRACTOS

- **Concepto:** Es un preparado concentrado de droga animal o vegetal, se extrae por los procedimientos descritos en la farmacopea, preparados usualmente más potentes que la droga cruda.

Existen 3 tipos: ⁽¹³⁾

- **Extractos Fluidos:** El disolvente se ha evaporado en el rotavapor hasta conseguir una concentración de principio activo similar a la concentración del principio activo en la droga original. Tienen consistencia líquida y se obtienen generalmente por maceración o percolación. El disolvente suele ser agua o mezclas hidroalcohólicas.

También pueden obtenerse por disolución de extractos secos. Los extractos fluidos se alteran fácilmente con la luz y el aire.

Son muy usados para obtener formas líquidas ya que se manipulan y se dosifican con facilidad. ⁽¹³⁾

- **Extractos Blandos:** Poseen una concentración de principio de activo superior a la de la droga original y tienen consistencia semisólida. El disolvente suele ser agua o mezclas hidroalcohólicas. Los extractos blandos son poco estables y difíciles de manipular, por lo que prácticamente no se utilizan. ⁽¹³⁾

- **Extractos Secos:** Se obtienen por evaporación total de disolvente y tienen una consistencia de polvo. Presentan una concentración muy superior de principio activo de la droga original. Son preparados bastante estables (aunque en muchas ocasiones resultan higroscópicos) y de fácil manipulación que se pueden preparar tinturas, extractos fluidos, etc. ⁽¹³⁾

- **Crioextractos:** Se obtienen de la droga fresca congelada de los que se extraen los principios activos mediante hidrógeno líquido, luego se añade alcohol etílico. Los crioextractos resultan muy caros, pero son muy útiles para la obtención de enzimas y proteínas de ciertas especies. ⁽¹³⁾

1.4. CREMAS

Son pomadas multifásicas constituidas por dos fases, una lipófila y otra acuosa.

- Hidrófobas: La fase continua o externa es la fase lipófila debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo W/O. ⁽³⁹⁾
- Hidrófilas: La fase externa es de naturaleza acuosa debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo O/W, tales como jabones sódicos o trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados, a veces combinado en proporciones convenientes con emulgentes tipo W/O.

1.4.1. Características de los excipientes

Las características que de modo general deben reunir los excipientes de pomadas pueden resumirse en las siguientes: ⁽³⁹⁾

- Deben ser bien tolerados y no manifestar acciones que impidan su uso (irritantes, sensibilizantes).
- Tienen que ser inertes frente al principio activo que incorporan (compatibilidad física y química), así como frente al material de acondicionamiento.
- Han de ser lo suficientemente estables frente a los factores ambientales como para garantizar su conservación.
- Deben presentar una consistencia conveniente para su extensión sobre la piel o las cavidades mucosas que se realice con facilidad y además, puedan dispensarse en tubos.
- En determinados casos (pomadas oftálmicas) se requiere que sean esterilizables.
- Deben ceder adecuadamente el principio activo que incorporan.
- En la medida de lo posible, tienen que presentar caracteres organolépticos no desagradables.

1.4.2. Clasificación de los excipientes

Los excipientes de pomadas pueden dividirse, de acuerdo con los diferentes tipos de pomadas que ya se han identificado anteriormente. Dos de estos grupos pueden utilizarse directamente como excipientes (2 y 4) al tiempo que constituyen la base para la preparación de los excipientes emulsión correspondiente (3 y 5, respectivamente), que son de uso más extendido. ⁽³⁹⁾

SISTEMAS W/O

1. Excipientes hidrófobos
2. Bases de absorción (anhidras)
3. Emulsiones W/O
4. Bases emulgentes O/W (anhidras)

SISTEMAS O/W

5. Emulsiones O/W
6. Excipientes hidrófilas

1.4.2.1 Excipientes hidrófobos

Son vehículos de carácter graso o lipófilo, que pueden utilizarse aislados o en mezclas. ⁽³⁹⁾

Tienen en común su carácter oclusivo (o emoliente); inducen la hidratación en la zona de aplicación y mantienen una capa acuosa de cierto espesor en la interface vehículo/piel, debido a la acumulación del agua interna y el sudor.

Ejemplos: hidrocarburos (vaselinas y parafinas), aceites vegetales, grasas semisintéticas, ceras y siliconas.

1.4.2.1.1 Vaselina y Parafinas (Hidrocarburos Sintéticos)

La vaselina y las parafinas líquidas y sólida se obtienen mediante tratamiento adecuado de determinadas fracciones del petróleo bruto. ⁽³⁹⁾

La vaselina constituye un sistema de dos fases con estructura de gel. La fase líquida, que representa el 50-80% del total, está formada por parafinas e isoparafinas líquidas y por hidrocarburos olefínicos. La fase sólida está constituida por un componente cristalino (n parafinas) y un componente microcristalino (isoparafinas).⁽³⁹⁾

Los hidrocarburos sólidos forman un esqueleto reticular, coherente, tridimensional en el que se alojan los hidrocarburos líquidos. Las buenas propiedades que caracterizan a una vaselina de alto valor farmacéutico sólo se presentan si existe una relación bien equilibrada entre parafinas cristalinas y microcristalinas por una parte, y parafinas líquidas por otra. Se distinguen tres tipos de vaselinas: naturales, de nafta y sintéticas.⁽³⁹⁾

El punto de fusión de las vaselinas oficinales oscila entre 38 y 60°, lo que garantiza una óptima extensibilidad sobre la piel. Debido a su inercia química, es compatible con la mayoría de medicamentos y francamente estable. En cambio posee ciertos inconvenientes, ya que es difícil de eliminar de la piel y mancha la ropa.

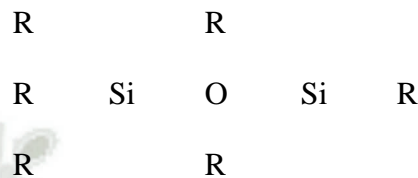
Todas las vaselinas son altamente oclusivas y a menudo se emplean como emolientes, solo para mantener una textura suave de la piel y favorecer el correcto desarrollo y formación del estrato corneo.

Las parafinas de consistencia líquida, así como las de consistencia sólida, se utilizan para rebajar o aumentar la consistencia de los vehículos, adicionadas a otros excipientes grasos.⁽³⁹⁾

Modernamente se emplean bases grasas formadas por mezclas seleccionadas y altamente purificadas de hidrocarburos, cuyo peso molecular medio es del orden de 1300. Una de ellas está registrada con el nombre de PLASTIBASE®. Está constituida por cinco partes de polietileno (PM ~21000) y 95 partes de parafina líquida y es de gran consumo. Por sus propiedades es sensiblemente igual a la vaselina, pero a diferencia de esta última su consistencia permanece prácticamente invariable a temperaturas que van desde -15°C hasta +60°C, y no se modifica apreciablemente cuando se le adiciona una proporción elevada de sólidos. Su manipulación es, en consecuencia más cómoda, particularmente en la producción a gran escala. En lo que se refiere a la liberación de medicamentos, parece que se comporta más favorablemente que la vaselina.⁽³⁹⁾

1.4.2.1.2 Siliconas

Son polímeros sintéticos cuya estructura básica está formada por cadenas que contienen, alternativamente, átomos de oxígeno y de silicio, con constituyentes orgánicos variables (metilo o fenilos casi siempre) en los átomos de este último, presentan la siguiente formula general. ⁽³⁹⁾



Las más utilizadas son las dimeticonas, pertenecientes al grupo de los dimetilsiloxanos. ⁽³⁹⁾

Según el grado de polimerización, se obtienen desde líquidos fluidos hasta sólidos consistentes.

Las siliconas tienen cuatro propiedades básicas que las hacen extraordinariamente útiles desde el punto de vista farmacéutico y dermatológico:

- Hidrofobia acusada, lo que les confiere propiedades en extremo hidrorrepelentes.
- Gran inercia química y, en consecuencia, extraordinaria estabilidad.
- Inocuidad y ausencia de irritabilidad sobre la piel.
- Especial afinidad hacia la piel, sobre la que tienden a formar películas muy adherentes y finas.

En farmacia se utilizan las de consistencia fluida y no se emplean solas sino adicionadas a otros excipientes, a los que proporcionan adherencia y capacidad oclusiva. Forman parte de la fase grasa de muchas cremas de tipo emulsión que se aplican sobre la piel en capa fina; cuando se evapora el agua, quedan recubriendo la piel en forma de una película finísima, casi invisible, emoliente y protectora y, al mismo tiempo, de oclusividad moderada debido al pequeño espesor de la capa.

A parte de ello, se emplean para la preparación de cremas hidrorrepelentes y protectoras frente a los agentes químicos (jabón, sustancias agresivas), mezclada con vaselina (30:70).⁽³⁹⁾

1.4.2.1.3 Ceras

Son excipientes no del todo hidrófobos y, por supuesto, mas polares que cualquiera de los anteriores. La más empleada es la de abejas, lavada y purificada, denominada en Farmacia cera blanca, y que se presenta en forma de laminillas o grumos sensiblemente esféricos de fácil manipulación. Químicamente, es una mezcla de tres tipos de componentes principales.⁽³¹⁾

- Ésteres de ácidos grasos y alcoholes de elevado peso molecular (70%).
- Ácidos libres fundamentalmente de cadenas saturadas (10-20%).
- Hidrocarburos sobre todo de cadenas lineales y saturados (10-20%).

Una característica de las ceras es la de incorporar cierta proporción de agua cuando están fundidas, aunque la mayor parte del agua se pierde al solidificar y el resto queda incorporada en forma de cuasi emulsión, muy lábil, que se cede fácilmente a la piel y actúa como refrescante.

Normalmente no se emplea aislada, sino en mezcla con parafinas líquidas o semisólidas, más frecuentemente con aceites vegetales, que rebajan su consistencia. Las pomadas que contienen una proporción importante de ceras suelen denominarse “ceratos”.⁽³⁹⁾

1.4.2.1.4 Glicéridos Naturales y semisintéticos

Algunas sustancias grasas utilizadas como excipientes se obtienen a partir de diferentes semillas o frutos de distintas especies vegetales, pero los más empleados en pomadas son el aceite de oliva, el de almendra y el de maní.⁽³⁹⁾

Se obtienen por expresión en frío o en caliente. El primer procedimiento es el de elección para algunos aceites officinales, ya que permite obtener aceites de

excelente calidad que presentan interés particular de conservar los antioxidantes naturales (aceites vírgenes).

Los aceites vegetales están constituidos esencialmente por triglicéridos, es decir, triésteres de glicerol y ácidos grasos. Los ácidos más abundantes en los aceites son los saturados (laurico y mirístico entre otros) e insaturados (oleico y linolénico por ejemplo).

Los aceites vegetales contienen también una pequeña cantidad de ácidos grasos libres y una fracción insaponificable en la que se encuentran los pigmentos, los esteroides y las vitaminas liposolubles. Algunas de estas sustancias (tocoferoles) desempeñan el papel de antioxidantes naturales que evitan, en parte, el enranciamiento de los aceites.⁽³⁹⁾

Se utilizan, básicamente, para reducir la consistencia de las pomadas añadidas a otros excipientes, como las ceras o las bases de absorción. Los aceites vegetales son sustancias afines con la piel y bien toleradas. Por esta razón se emplean en pomadas que deben absorberse. La película aplicada sobre la piel no impide los procesos fisiológicos de la misma.

También se utilizan glicéridos semisintéticos preparados por esterificación de la glicerina, con ácidos grasos saturados de cadena de C12, especialmente laúrico y esteárico. Por lo general, se parece bastante a los aceites, aunque es menos polar; sus propiedades estarían entre los aceites y los grasos (vaselinas).⁽³⁹⁾

1.4.2.2 Bases de absorción anhidras

Son excipientes sin agua, constituidos por vehículos hidrófobos adicionados de emulgentes W/O. Para su elaboración se emplean sustancias hidrófobas como las vaselinas o las parafinas y otras a las que se adicionan, como emulgentes, lanolina o sus derivados; también se utilizan con frecuencia emulgentes sintéticos.

Se usan, por sí mismas, como preparados emolientes que carecen de la marcada capacidad oclusiva que poseen los excipientes grasos, pero aun así, permiten mantener un grado de hidratación muy conveniente en la piel. Sin embargo, tienen tal vez mayor interés como bases para la preparación de los excipientes tipo W/O por simple incorporación de agua sin perder su consistencia primitiva.

La denominación de bases de absorción se debe, precisamente, a su capacidad para absorber agua en forma de emulsión W/O, esta capacidad se establece por regla general, mediante el llamado índice de agua, que equivale a la cantidad de este líquido que puede ser retenida de manera estable por 100 gramos de base a la temperatura ambiente. ⁽³⁹⁾

1.4.2.2.1 Lanolina y Derivados

La lanolina constituye, por sí misma, una base de absorción. Es parecida por su constitución a las ceras pero más hidrófila y se obtiene por purificación de la secreción que impregna la lana de oveja, en la cual, además de los triglicéridos del sebo, se encuentra la cera procedente de las células epidérmicas queratinizadas. ⁽³¹⁾

Los componentes de la lanolina son:

- Ésteres de ácidos y alcoholes de elevado PM (90-95%). Los ácidos grasos son cadena lineal C10 a 26 y también los hidroxiácidos C12 a 20. Los alcoholes que forman los ésteres son alifáticos, esteroides y triterpénicos.
- Ácidos y alcoholes libre 4 %
- Hidrocarburos 4 %.
- Contiene normalmente un 25 – 35 % de agua, que puede separarse por fusión originando la lanolina anhidra. Sin embargo, puede incorporar mayores cantidades de agua debido a la presencia de alcoholes grasos, que actúan como emulgentes W/O, entre ellos el colesterol libre, cuya capacidad de incorporación de agua es muy elevada. ⁽³¹⁾

Es altamente compatible con la piel por la similitud de su composición con la de los lípidos cutáneos.

Inconvenientes: inestable, tacto desagradable y alto punto de fusión. Por eso, raramente se usa aislada, sino en combinación con otras sustancias o en forma de sus derivados (“alcoholes de lana”).⁽³⁹⁾

Se prefieren actualmente a los alcoholes de lana que a la lanolina por su pureza, su mayor capacidad de incorporación de agua y de medicamentos y su mejor textura y finura para la piel. A continuación se cita un ejemplo de base de absorción que se encuentra incluido en farmacopeas y formularios. Cuya composición es la siguiente:⁽³⁹⁾

Alcoholes de lana	6%
Vaselina blanca	10%
Parafina sólida	24%
Parafina líquida	60%

Con frecuencia se acude a la utilización de mezclas vaselina-lanolina con el fin de combinar la capacidad absorbente de la lanolina (acción a nivel dérmico) con la oclusividad de la vaselina (acción a nivel epidérmico). Estas bases de absorción, por sí mismas, previenen la evaporación y mantienen la hidratación del estrato córneo, favoreciendo en general la penetración de los fármacos.⁽³⁹⁾

Alcohol cetosteárilicos	5%
Lanolina	5%
Parafina sólida	5%
Vaselina	85%

También son frecuentes otras mezclas en las que a la vaselina se le adicionan alcoholes grasos alifáticos (cetílico, estearílico) o triterpénicos (colesterol) con pequeñas proporciones de ceras. Estas bases de absorción tienen composición más fijas, son más manejables, tienen mejores caracteres organolépticos. Gran capacidad de incorporación de agua, debido al carácter emulgente W/O de los alcoholes.⁽³⁹⁾

Colesterol	3%
Alcohol estearílico	3%
Cera blanca	8%
Vaselina blanca	86%

Todas ellas se preparan por fusión de la mezcla, agitando hasta enfriamiento.⁽³¹⁾

1.4.2.3 Emulsiones w/o

Todas las bases de absorción citadas, producen por incorporación de agua excipientes emulsión W/O aptos para la administración de fármacos y también para otros usos.⁽³⁹⁾

La adición de agua puede hacerse en frío en algunos casos, pero, en general, se realiza calentando a 60-70 °C la base y el agua (provista o no del medicamento) por separado; el agua se añade a la base fundida y se agita continuamente hasta el enfriamiento.

Las emulsiones W/O se utilizan para:

- La preparación de cremas refrescantes o cold-creams en cosmética
- Como vehículos de medicamentos tópicos o penetrantes.

Las cremas refrescantes son emulsiones hábiles que ceden el agua con facilidad cuando se aplican sobre la superficie de la piel; al elevarse la temperatura, la emulsión se rompe. La evaporación del agua produce una sensación refrescante.

Las cold-creams más clásicas no son otra cosa que ceratos con agua, que están en muchas farmacopeas; en casi todas ellas, la consistencia se rebaja por adición de aceites vegetales o parafinas líquidas y al agua se le añaden esencias para mejorar sus caracteres organolépticos. A continuación se presenta una fórmula que se encuentra en el Formulario Nacional Francés: ⁽³⁹⁾

Cera blanca	13,0 g
Aceite de almendras	53,5 g
Agua destilada de rosas	33,0 g
Bórax	0,5 g

Otras cold-creams se preparan por adición de agua a vehículos ya citados anteriormente, es decir, bases de absorción, oficinales o no. Este tipo se presenta a continuación: ⁽³⁹⁾

Alcoholes de lana	3 g
Vaselina blanca	5 g
Parafina sólida 1	2 g
Parafina líquida	30 g
Agua destilada	50 g

Sin embargo, estas emulsiones no son tan refrescantes como los ceratos con agua, debido a que son más estables y ceden su agua con mayor dificultad. ⁽³¹⁾

Por otra parte, las cold-creams, especialmente los sistemas vaselina/alcoholes grasos, pueden emplearse como vehículos de medicamentos tópicos y penetrantes, pero, en general, son más usados los sistemas vaselina/lanolina y, sobre todo, las mezclas de vaselina o aceites con emulgentes sintéticos W/O. Muchas pomadas medicamentosas comerciales están elaboradas con estos tipos de excipientes, ya que pueden favorecer la penetración debido a su carácter moderadamente oclusivo y a su buena miscibilidad con el sebo.

1.4.2.4 BASES DE EMULSIÓN O/W ANHIDRAS

Este tipo de excipientes también se conoce como “excipientes lavables”, porque su carácter organoléptico más relevante es el ser fácilmente eliminables por lavado o aclarado con agua corriente. Estos vehículos generan con facilidad, por adición de agua, emulsiones O/W generalmente muy estables.⁽³⁹⁾

Están constituidos por mezclas de vehículos grasos o lipófilos y emulgentes O/W, con o sin componentes hidrófilos.

El emulgente que contienen puede ser aniónico, catiónico o no iónico; por razones de inocuidad se prefieren los últimos (no iónicos), siempre que sea posible. Además se pueden adicionar alcoholes grasos (cetílico) que aunque son emulgentes de signo contrario, refuerzan la capacidad emulgente de los anteriores y mejoran la consistencia y estabilidad. Aunque pueden incluir grandes cantidades de agua no debe superarse una proporción superior al 50% de su peso, porque disminuiría la consistencia que les hace perder su condición de pomadas.

Nunca se emplean aisladas, sino como vehículos que generan con facilidad, por adición de agua, emulsiones O/W generalmente muy estables.⁽³⁹⁾

Composiciones de uso extendido:⁽³⁹⁾

Cera Lanette (Lanette N ®) (Aniónica)

Alcohol cetosteárico(Latente O ®) 90

Cetosteáril sulfato sódico (Lanette E ®) 10

Pomada de cetrimida (BP) (Catiónica)

Alcohol cetosteárico(Lanette O ®) 27

Cetrimida 10

Parafina líquida 20

Vaselina blanca 50

Base de emulsión no iónica

Alcohol cetosteárico(Lanette O ®)	30
Parafina líquida	10
Polisorbato 80	10
Vaselina blanca	50

1.4.2.5 Emulsiones O/W

Estas bases se pueden obtener por adición de agua a cualquiera de las bases de emulsión, aunque la mayoría se prepara siguiendo el procedimiento que se detalla a continuación: ⁽³⁹⁾

- Fusión de los componentes grasos a 60-70 °C
- Calefacción a esa misma temperatura de los componentes de la fase acuosa
- Adición de fase acuosa en porciones sobre la grasa fundida con agitación suave hasta enfriamiento.

Estos vehículos son lavables, como las bases de las que derivan, con todas las ventajas que ello comporta. No son tan oclusivas como las bases de absorción y mucho menos que los excipientes grasos, pero resultan mucho más agradables en todos los aspectos y gozan de mayor aceptación por parte de consumidores, especialmente en el campo cosmético. ⁽³⁹⁾

Cuando se aplican sobre la piel, pierden agua por evaporación con relativa rapidez, lo que desvirtúa en parte sus propiedades como vehículos; por esta razón, se suelen añadir a las fases acuosas compuestos hidrotrópicos de punto de fusión más alto que el agua, que retardan la evaporación; el más utilizado es la glicerina, pero también lo son el propilenglicol, el sorbitol y varios polioles.

Si la proporción de fase acuosa es elevada (> 80%) su evaporación, una vez aplicada sobre la piel, hace que no dejen residuo apreciable y la piel queda con su aspecto normal (cremas evanescentes). ⁽³⁹⁾

Llevar conservantes de fase acuosa, debido a que estas emulsiones son sensibles a la contaminación microbiana. Asimismo contienen antioxidantes, que eviten el enranciamiento de la fase oleosa. ⁽³⁹⁾

Son buenos vehículos para la aplicación de medicamentos, son muy utilizados, y existe una gran variedad de las mismas.

Ungüento hidrófilo (USP) ⁽³¹⁾

Alcohol estearílico	25
Vaselina blanca	25
Lauril sulfato de sodio	1
Propilenglicol	12
Agua purificada	37

1.4.2.6 Excipientes Hidrófilos

Son vehículos sin grasas, constituidos por materiales que, por sí mismos o en presencia de agua, adquieren consistencia semisólida y son útiles como excipientes para la aplicación de fármacos sobre la piel. ⁽³⁹⁾

- No poseen capacidad oclusiva
- No favorecen por sí mismos la penetración de fármacos

A pesar de ello, se consideran muy adecuados como vehículos de diversos fármacos.

Las ventajas de estas bases residen en:

- Favorable acción sobre los tejidos y,
- Su fácil eliminación por lavado.

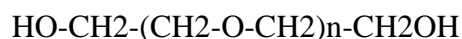
Inconveniente: se deshidratan con pérdida de textura original, y exigen un control microbiano adecuado, siendo necesaria la adición de conservantes. ⁽³¹⁾

Se explicaran en primer lugar, las bases hidrófilas susceptibles de ser utilizadas como excipientes anhidros y, posteriormente, los excipientes que, en presencia de agua, dan origen a la formación de geles con consistencia adecuada para constituir una pomada.

1.4.2.6.1 Excipientes anhidros

Tienen mayor margen de compatibilidad con los medicamentos y se utilizan en muchos casos como vehículos de estos. Los más importantes dentro del grupo son los polietilenglicoles (macrogoles) ⁽³⁹⁾

Fórmula general:



Según su peso molecular cambia la consistencia.

- PM 200-700 son líquidos de viscosidad creciente
- PM 800-1500 semisólidos
- PM 3000-6000 son céreos o sólidos (sinonimia: carbowax)

Mediante combinaciones en proporción conveniente de bajo y alto PM se obtienen productos con consistencia de pomadas. ⁽³⁹⁾

Su principal ventaja es que son solubles en agua. A medida que el peso molecular aumenta, se van haciendo más y más compatibles con las grasas, hasta el punto de que los últimos forman parte de algunos excipientes grasos.

Un excipiente hidrófilo, de consistencia similar a la de la vaselina filante, es la Pomada de polietilenglicol, oficial en la USP, que se prepara mezclando a 65 °C los siguientes componentes: ⁽³⁹⁾

Polietilenglicol 400	90%
Polietilenglicol 3000	40%

Es útil como excipientes de medicamentos que se le añaden generalmente en suspensión y más raramente disueltos en agua. Es fácil de extender y tiene buena adherencia a la piel.

Permite la adición de hasta un 5 % de agua, cantidades mayores alteran su consistencia. En esos casos, se modifica su composición agregando un 10 % de alcohol cetílico (45:45:10), oficial de la USP que admite proporciones de agua de hasta 20 %.

Presentan incompatibilidad con fenoles, ácido benzoico, entre otras drogas. Sin embargo presentan su uso tiene gran difusión debido a que son:

- Adecuadas para pieles seborreicas
- No son irritantes
- Buena adherencia y extensibilidad
- No impiden transpiración ni sudoración

Su elevada higroscopicidad los hace excelentes excipientes para el secado de heridas, pero por ello están contraindicados en eccemas, psoriasis y acné.⁽³⁹⁾

1.4.3. Procedimiento Normalizado de elaboración de emulsiones

1.4.3.1 Objetivo

Definir el procedimiento para la elaboración de emulsiones.⁽²⁶⁾

1.4.3.2 Responsabilidad de Aplicación y alcance

La responsabilidad de aplicación y alcance de este procedimiento recae sobre todo el personal (técnico y/o auxiliar) que proceda a la elaboración de emulsiones.⁽²⁶⁾

1.4.3.3 Definiciones

Emulsión: sistema disperso, estabilizado mediante la adición de un agente emulgente adecuado, de dos fases inmiscibles, donde ambas, la fase interna y la fase externa, son líquidas. El tamaño de partícula de la fase interna varía entre 0,5 y 100mm.⁽²⁶⁾

La IUPAC, define una emulsión como un líquido que contiene gotas líquidas y/o cristales líquidos dispersos.⁽²⁶⁾

1.4.3.4 Descripciones

1.4.3.4.1 *Formula patrón*

En general se ajusta a:

	Emulsión O/A	Emulsión A/O
<i>Principio activo</i>	<i>x%</i>	<i>x%</i>
<i>Excipientes:</i>		
<i>Fase grasa</i>	10-30%	10-50%
<i>Fase acuosa</i>	60-85%	40-85%
<i>Emulgente</i>	≤10%	≤10%

En caso de utilizar una base autoemulsionable, seguir las instrucciones del fabricante. ⁽²¹⁾

1.4.3.4.2 *Material y equipo*

- Agitador mecánico con/sin calefacción o manual.
- Vasos de precipitados u otros recipientes adecuados.
- Sistema de producción de calor. ⁽²⁶⁾

1.4.3.4.3 *Entorno*

- Humedad relativa: ≤60%
- Temperatura: 25±5°C

Excepto los casos en que las especificaciones de la formulación requieran otras condiciones. ⁽²⁶⁾

1.4.3.4.4 *Método patrón*⁽²¹⁾

- Pesar los componentes de la fase oleosa, incluido los emulgentes, y reunirlos en un mismo recipiente o reactor en función del tamaño del lote a preparar.
- Pesar los componentes de la fase acuosa y reunirlos en otro recipiente.
- Si la totalidad de los componentes de la fórmula son fluidos a temperatura ambiente y, las características del sistema emulgente lo permiten, se puede proceder a la emulsificación a temperatura ambiente. Proceder según lo descrito en el punto VI del presente procedimiento.
- Si se precisa calentar, los componentes termolábiles o volátiles (principios activos y excipientes) tanto de la fase acuosa como de la oleosa. Deberán adicionarse a la emulsión al final del proceso de enfriamiento.
- Calentar la fase oleosa como mínimo de la temperatura de fusión del componente con punto de fusión más elevado, bajo agitación moderada para asegurar su homogeneidad.
- Calentar la fase acuosa a la misma temperatura que la fase oleosa, bajo agitación moderada para garantizar su homogeneidad.
- Emulsificar por adición de la fase acuosa sobre la oleosa. La velocidad de adición, duración, velocidad de agitación y tipo de agitación empleada, dependerá de las características de cada formulación.
- En los procesos de emulsificación caliente, proceder a estabilizar el sistema mediante agitación moderada durante toda la fase de enfriamiento.

- Incorporación del principio activo:
 - Principios activos termolábiles o insolubles en la fase externa: disolverlos o dispersarlos en el mínimo volumen posible de un solvente con la polaridad adecuada (glicerina, propilenglicol, vaselina líquida, etc.) incorporándolos cuando la temperatura de la emulsión haya descendido a unos 30-35°C en el caso de una emulsión en caliente.
 - Principios activos hidrosolubles no termolábiles: disolverlos en fase acuosa.
 - Principios activos liposolubles no termolábiles: disolverlos en la fase grasa.
- Proceder a la limpieza del material y equipo según especifique en los procedimientos de limpieza correspondientes.

1.4.3.4.5 Acondicionamiento⁽²¹⁾

Proceder al acondicionamiento de la emulsión, según las especificaciones particulares de cada formulación.

El tipo de envase utilizado debe ser adecuado y compatible con la emulsión que contiene.

Antes de proceder el envasado es conveniente dejar la fórmula en reposo durante un corto espacio de tiempo.



CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental.

2.2. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El diseño de investigación corresponde al de 7 grupos experimentales, constituidos por 7 heridas incisas practicadas en 25 animales de experimentación (2 heridas por animal), distribuyéndose las heridas en forma aleatoria para constituir los siguientes grupos experimentales:

- Grupo Experimental 1: Conformado por 7 heridas incisas a las que se les aplicó extracto etanólico.
- Grupo Experimental 2: Conformado por 7 heridas incisas a las que se les aplicó extracto de propilenglicol.
- Grupo Experimental 3: Conformado por 7 heridas incisas a las que se les aplicó crema con extracto etanólico al 20%.
- Grupo Experimental 4: Conformado por 7 heridas incisas a las que se les aplicó crema con extracto de propilenglicol al 20%.
- Grupo Experimental 5: Conformado por 7 heridas incisas a las que se les aplicó la crema base.
- Grupo Experimental 6: Conformado por 7 heridas incisas a las que se les aplicó el medicamento comercial.
- Grupo Experimental 7: Conformado por 7 heridas incisas que fueron el grupo control.

2.3. MATERIALES

2.3.1. Material biológico

2.3.1.1 Material vegetal

En el presente estudio se utilizó 200 g de partes aéreas secas de *Aloysia spathulata* (chiqchilla) colectadas en la localidad de Cotahuasi, departamento de Arequipa, durante el mes de setiembre.

2.3.1.2 Material animal

Por la naturaleza de la investigación que es experimental preclínica, el material animal estuvo conformado por 25 ratas albinas de ambos sexos pertenecientes a la especie *Rattus norvegicus* (ratas albinas).

2.3.2. Material de laboratorio

2.3.2.1 Material de vidrio

- Baguetas
- Balón
- Embudo
- Matraz Erlenmeyer
- Perlas de vidrio
- Pipetas
- Probetas graduadas
- Mortero
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitados

2.3.2.2 Equipos

- Balanza de precisión
- Balanza
- Cocina eléctrica
- Equipo Soxhlet
- Estufa
- Lámpara de luz UV
- Mechero Bunsen
- Refrigerador
- Rotavapor

2.3.2.3 Reactivos

- Acetato de etilo
- Ácido sulfúrico
- Agua destilada
- Alcohol cetílico
- Alcohol etílico
- Alcohol metílico
- Amoniaco
- Butil hidroxitolueno
- Cera lanette
- Cloruro de aluminio
- Cloruro férrico
- Glicerina
- Metilparabeno
- Propilenglicol
- Propilparabeno
- Tolueno
- Trietanolamina

2.3.2.4 Otros materiales

- Aguja de sutura
- Algodón
- Barbijo y gorro de laboratorio
- Bisturí #21
- Espátulas de 10 cm
- Frascos de vidrio ámbar capacidad 60 ml
- Guantes de látex talla 7
- Jeringa de tuberculina
- Máquina para rasurar
- Papel filtro
- Plumón marcador indeleble
- Potes de plástico 40 g
- Seda negra 3/0
- Vasos descartables 150ml

2.3.3.Productos Farmacéuticos

2.3.3.1 Crema cicatrizante

2.3.3.1.1 *Nombre comercial*

Mucovit®

2.3.3.1.2 *Composición declarada*

Cada 100 g de Mucovit® crema contiene:

- | | |
|--------------------------|-------------|
| ➤ Vitamina A | 500000 U.I. |
| ➤ Dexpantenol | 5.0 g |
| ➤ Vitamina E | 1.0 g |
| ➤ Excipientes | csp |
| ➤ Presentación | Tubo x 60 g |
| ➤ Laboratorio fabricante | Hersil S.A. |

2.4. MÉTODOS

2.4.1. Métodos de Farmacoergasia

2.4.1.1 Cultivo de la planta medicinal

No se práctica el cultivo de la planta medicinal *Aloysia spsthulata* (chiqchilla), es una especie endémica y que crece espontáneamente en la localidad de Cotahuasi.

2.4.1.2 Colecta de la planta medicinal

La colecta fue realizada en la zona ribereña del río en la localidad de Cotahuasi.

2.4.1.3 Secado la droga

La droga fue secada en estufa de desecación durante 4 horas a una temperatura de 40°C.

Figura N°8: Chiqchilla (*Aloysia sphaatulata*) debidamente estabilizada y desecada para su trituration.



2.4.1.4 Trituración

La trituration se efectuó en un mortero, hasta la obtención de un triturado con un grado de tamaño de partícula adecuado para los procesos extractivos, nunca llegando al estado de polvo. ⁽¹⁴⁾

2.4.2. Métodos de obtención de extractos de chiqchilla

2.4.2.1 Método del Soxhlet

Fundamento

El método del Soxhlet es un método de extracción que utiliza disolventes orgánicos de naturaleza volátil. Es un sistema de extracción sólido-líquido de tipo continuo, cuya principal ventaja es la utilización de poco disolvente, debido a su constante renovación y extracción. Su desventaja es que permite la extracción de cantidades mínimas de droga (aprox. 10 g). Este método consta de tres partes, unidas mediante juntas esmeriladas, en la parte inferior del sistema se encuentra un balón de fondo plano, en donde se deposita el disolvente y se recibe el producto extractivo, luego de iniciada la extracción; en la parte del medio se ubica el cuerpo extractor donde se coloca la droga, acondicionada generalmente en un papelón de papel filtro rápido, en esta parte es donde ocurren los fenómenos de extracción; finalmente en la parte superior se encuentra el refrigerante, cuyo rol es condensar el disolvente en estado de gas proveniente del balón de fondo plano, y dirigirlo mediante goteo hacia el cuerpo extractor, para que el disolvente entre en contacto con la droga. Este proceso puede repetirse por varias veces, hasta agotar la droga. ⁽¹⁰⁾

Procedimiento

Colocar 10 g de *Aloysia spathulata* chiqchilla triturada en un papelón de papel filtro; por otra parte introducir en el cuerpo extractor 150 ml de disolvente (alcohol etílico o etanol). Armar el equipo asiéndolo a un soporte universal. Alimentar el condensador con un flujo lento de agua. Encender la cocina eléctrica e iniciar la extracción. Agotada la droga, acondicionar el líquido extractivo en un frasco ámbar de vidrio.

Figura N°9: Procedimiento de extracción mediante equipo Soxhlet.



2.4.2.2 Método de maceración

Fundamento

La maceración también es un método de extracción que utiliza disolventes orgánicos de diversa naturaleza, pudiendo ser incluso apolares y oleosos. Es un sistema de extracción sólido-líquido de tipo discontinuo, cuya principal ventaja que permite la extracción de grandes cantidades de droga a bajo costo; como desventaja se encuentra la saturación del disolvente de extracción ya que no es renovado.

El periodo de extracción depende de la naturaleza de la droga y su grado de trituración, la bibliografía señala como periodo de maceración entre 7 a 14 días. Durante este periodo es recomendable agitar o mover constantemente el sistema de maceración y si es factible cerrar el sistema para evitar la evaporación del disolvente.

Procedimiento

Colocar 20 g de *Aloysia spathulata* chiqchilla triturada en un recipiente de boca ancha de vidrio con cierre que garantice su hermeticidad. Por otro lado medir con la ayuda de una probeta 100 ml de disolvente (propilenglicol). Añadir este disolvente a la droga, cerrar bien el recipiente y almacenarlo en un lugar oscuro, fresco y seco. Durante el almacenamiento agitar constantemente. Transcurridos 10 días filtrar con una gasa, si fuere necesario lavar la droga con disolvente hasta completar 100ml. Conservar el líquido extractivo en un frasco ámbar de vidrio.

Figura N° 10: Procedimiento de maceración de chiqchilla con propilenglicol.



2.4.3. Métodos de concentración de extractos

2.4.3.1 Al vacío

Utilizando rotavapor. Se trabaja a temperaturas inferiores a 40°C y en ausencia de oxígeno ya que se práctica el vacío. Se aplica para concentrar líquidos extractivos obtenidos con disolventes orgánicos y mezclas hidroalcohólicas. ⁽¹⁶⁾

Figura N°11: Concentración al vacío mediante Rotavapor.



2.4.4. Métodos fitoquímicos

2.4.4.1 Cromatografía en capa fina

Las separaciones en capa fina características se realizan en placas de vidrio revestidas por una capa delgada y adherente de partículas finamente divididas; esta capa constituye la fase estacionaria. Las partículas son semejantes a las de la cromatografía de adsorción, de reparto en fase normal y en fase inversa, de

intercambio iónico y de exclusión por tamaño. Las fases móviles también son similares a las que se emplean en la cromatografía de líquidos de alta resolución. ⁽²⁸⁾

2.4.4.1.1 Aplicación de la muestra

La aplicación de la muestra es tal vez el aspecto más decisivo de la cromatografía en capa fina, sobre todo cuando se trata de medidas cuantitativas. Por lo general se aplica una solución de la muestra de 0.01% a 0.1% como un punto a 1 o 2 cm del extremo de la placa. Para una separación más eficaz, este punto o mancha debe tener un diámetro mínimo, alrededor de 5mm para un trabajo cualitativo y menos para el análisis cuantitativo. En el caso de soluciones diluidas, se realizan tres o cuatro aplicaciones superpuestas secando la zona entre aplicación y aplicación.

La aplicación manual de las muestras se efectúa por contacto entre la placa y un capilar que contiene la muestra, o con una jeringa hipodérmica. En el comercio hay varios aplicadores mecánicos que mejoran la precisión y exactitud de la aplicación de la muestra. ⁽²⁸⁾

2.4.4.1.2 Desarrollo o creación de la placa

La creación de la placa es un proceso en el cual una muestra es arrastrada a lo largo de la fase estacionaria por una fase móvil; es similar a la elución en la cromatografía de líquidos. La forma más común de crear una placa es depositar una gota de la muestra cerca de uno de los extremos de la placa y marcar su posición con un lápiz. Una vez que se ha evaporado el solvente en el que estaba disuelta la muestra, se coloca la muestra en un recipiente cerrado y saturado con los vapores de solvente con el que se efectuará el proceso. Uno de los extremos de la placa se introduce en el solvente de desarrollo, pero se procura evitar el contacto directo de éste con la muestra. Una vez que el solvente de desarrolló se desplazó la mitad o las dos terceras partes de la longitud de la placa, se retira ésta del recipiente y se seca.

Las posiciones de los componentes de la muestra se determinan entonces por cualquiera de varios procedimientos.⁽²⁸⁾

Figura N°12: Creación de la placa cromatográfica en sílica gel.



2.4.4.1.3 *Ubicación de los analitos*

Se puede aplicar una diversidad de procedimientos para localizar los componentes de la muestra después de la separación. Dos de los métodos comunes, que se utilizan con la mayoría de las mezclas de sustancias orgánicas, consisten en rociar sobre la placa una solución de ácido sulfúrico o colocar la lámina en una cámara que contiene cristales de yodo. Ambos reactivos son sensibles a los compuestos orgánicos que han estado en la placa y dan productos oscuros. También se utilizan varios reactivos específicos como la ninhidrina para localizar especies separadas.⁽³⁵⁾

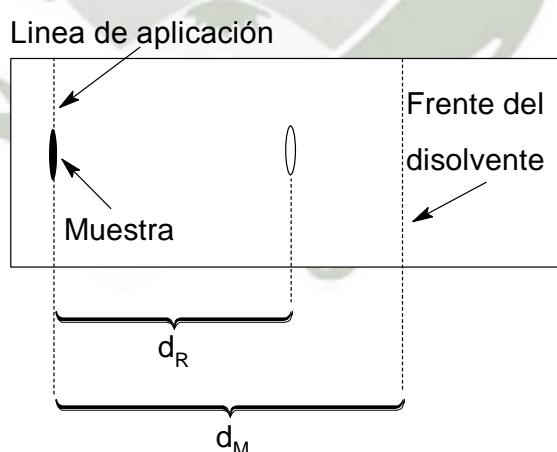
Otro método de detección utilizado se basa en la incorporación de un material fluorescente a la fase estacionaria. Una vez que ha finalizado la creación, se examina la placa con luz ultravioleta. Los componentes de la muestra amortiguan la fluorescencia del material de tal forma que toda la placa exhibe fluorescencia, excepto los lugares donde se encuentran los componentes de la muestra que no son fluorescentes. ⁽³⁵⁾

2.4.4.1.4 Factor de retardo

El factor de retardo para el soluto es:

$$R_f = \frac{d_R}{d_M}$$

Donde d_R y d_M son distancias lineales medidas desde la línea de aplicación. Los valores de R_f tienen la capacidad de variar desde 1 para solutos que no se retrasan hasta valores que se aproximan a 0. ⁽³⁵⁾



2.4.4.1.5 *Fases móviles y reveladores a utilizar* ⁽²¹⁾

2.4.4.1.5.1 General

- **Fase móvil:** Acetato de etilo: metanol:agua
97:20:10
- **Revelador:** Reactivo de vainillina-ácido sulfúrico
- **Detección:** Marrón=sesquiterpenlactonas.
Morado, verde o azul= terpenos;
Amarillo= flavonoides

2.4.4.1.5.2 Terpenos

- **Fase móvil:** Tolueno:Acetato de etilo
95:5
- **Revelador:** Reactivo de Liebermann Burchard
- **Detección:** Verde=triterpenos y esteroides.
Purpura rojizo a azul verdoso = esteroles.
Rojo= saponinas

2.4.4.1.5.3 Taninos

- **Fase móvil:** Metanol: agua
70:30
- **Revelador:** Reactivo de cloruro férrico
- **Detección:** Azul o marrón=taninos

2.4.4.1.5.4 Flavonoides

- **Fase móvil:** Acetato de etilo: Acido acético:Ácido fórmico: agua
100:11:11:26
- **Revelador:** Reactivo de cloruro de aluminio
- **Detección:** Fluorescencia amarilla bajo luz UV 365nm

2.4.4.1.5.5 Alcaloides

- **Fase móvil:** Acido acético:metanol: agua
70:10:20
- **Revelador:** Reactivo de Dragendorff
- **Detección:** Anaranjado-rojo en fondo amarillo

2.4.5.Método para la evaluación del efecto cicatrizante

2.4.5.1 Método tensiométrico

Fundamento

El método tensiométrico se fundamenta en la adición de la fuerza de tensión (medida en gramos), necesaria para abrir una herida incisa de 1 cm de longitud, perpendicular al eje del animal, producidas mediante bisturí en la piel del lomo de la rata. Modelo de referencia de Howes et al. La fuerza necesaria para aperturar la herida está relacionada directamente con el proceso de cicatrización, así una menor fuerza para abrir la herida será interpretada como una cicatriz mal consolidada, por el contrario una mayor fuerza implica un proceso de cicatrización favorable.. (18, 25, 29)

Procedimiento

Estandarización de los animales

Los veinticinco animales de experimentación se alimentaron 7 días antes con la misma dieta en jaulas individuales. Durante este periodo fueron observados para verificar sus condiciones, procurando ciclos de luz-oscuridad adecuados.

Distribución aleatoria

Se practicaron dos heridas en cada animal, haciendo un total de 49 heridas incisas (practicadas en 25 animales de experimentación), se procedió a la identificación de cada animal, con la finalidad de asignarle una característica para los tratamientos que recibieron las heridas practicadas en su lomo. La realización de dos heridas en el mismo animal es con la finalidad de disminuir las variaciones biológicas interindividuales entre seres biológicos.

Depilación

Para realizar las heridas, previamente se rasuró las zonas a incidir mediante máquina de afeitar, en un área de aproximadamente 2 cm². Fue necesario administrar pentobarbital sódico por vía SC a una concentración de 45 mg/kg animal.

Figura N°13: Depilación del animal de experimentación.



Incisión de la piel

Luego de la depilación, se colocó el animal en la mesa de trabajo, se practicó la asepsia en la zona a incidir, se marcó con plumón dos líneas con una longitud de 1 cm, una a cada lado del lomo de las ratas. Se realizó el corte de punto a punto, levantando la piel de la rata. Luego se unió mediante sutura ambos lados de la herida incisa (cicatrización de primera intención). Se realizó la limpieza y se devolvió al animal a su jaula.

Figura N°14: Realización de heridas mediante incisión.



Aplicación de los tratamientos

Con la ayuda de un hisopo, se aplicó los tratamientos sobre las heridas, procurando que la cantidad y la extensión sean lo suficientemente adecuadas para cada tratamiento.

El tratamiento fué aplicado dos veces por día (dentro de las horas que está abierto el bioterio), durante siete días.

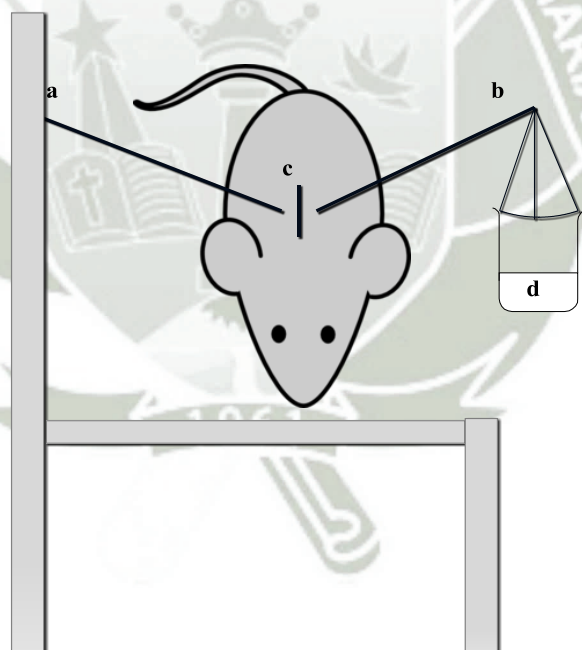
Figura N°15: Aplicación de los tratamientos con extractos puros y con las crema.



Determinación de la fuerza tensil de la cicatriz

Pasados los 7 días de tratamiento, se midió la fuerza tensil de las cicatrices, para ello se anestesió a cada animal justo antes de realizar la medición. Se duplicó la cantidad de anestésico. Se colocó a cada animal en un soporte tenciometrico. Se marcó los puntos donde se insertaron el punto fijo de tensión (a) y el punto móvil de tensión (b), estos se situaron a 0.5 cm de la cicatriz (c). Se acondicionó en el punto móvil un recipiente tarado, de capacidad suficiente para recibir arena necesaria para abrir la herida (d). Se registraron los gramos de arena necesaria para abrir cada cicatriz añadiendo lentamente la arena. Se pesó el recipiente conteniendo la arena.

Figura N°16 : Método tensiométrico



CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. RESULTADOS

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto cicatrizante de los extractos (etanólico y de propilenglicol) y las cremas con dichos extractos de la planta medicinal conocida comúnmente como chiqchilla cuyo nombre científico es *Aloysia spathulata*.

En primer lugar se consiguió la droga y se procedió al tratamiento respectivo de la misma conforme, la metodología descrita en el capítulo precedente; una vez seca y triturada se obtuvieron los extractos.

El extracto etanólico fue obtenido mediante el método del Soxhlet este método fue idóneo debido a la naturaleza del disolvente que es volátil y de bajo de punto de ebullición en comparación con el agua; el extracto con propilenglicol fue obtenido por el método de maceración, este método fue elegido debido a que el propilenglicol no es volátil, es un disolvente orgánico, higroscópico y miscible.

Posteriormente el extracto etanólico fue concentrado mediante rotavapor hasta la tercera parte del volumen consiguiendo así un extracto fluido (1:5), aumentado así su concentración. El extracto con propilenglicol mediante maceración fue utilizado sin realizar ninguna concentración, debido precisamente a la naturaleza del disolvente, por lo que la forma extractiva final adoptada fue la de una tintura al 20%.

Las características finales de ambos extractos se muestran a continuación en el siguiente cuadro:

Cuadro N° 1: Características de los Extractos de Chiqchilla, *Aloysia Spathulata*

Aspecto	Extracto por Soxhlet	Extracto por maceración
Disolvente	Etanol 96°	Propilenglicol
Color	Verde oscuro	Pardo oscuro
Aspecto	Límpido	Túrbido
Olor	Aromático	Muy aromático
Forma extractiva final	Extracto fluido (1:5)	Tintura 20%

Fuente: Elaboración propia

Con las formas extractivas conseguidas se procedió a la realización de los objetivos específicos de nuestra investigación, que son realizar la marcha fitoquímica preliminar mediante cromatografía en capa fina, la elaboración de las cremas con dichos extractos, y la evaluación de la actividad cicatrizante de los extractos y cremas.

La cromatografía en capa fina fue realizada con las fases móviles y reactivos reveladores descritos en el capítulo precedente, detectándose la presencia de flavonoides, terpenos, taninos no detectándose la presencia de alcaloides.

Cuadro N° 2: Cromatografía en capa fina al Extracto de Chiqchilla, *Aloysia Spathulata*

Metabolito	Revelador	Resultado
Flavonoides	Ácido sulfúrico-vainillina	Positivo
Terpenos	Reactivo de Liebermann Burchard	Positivo
Taninos	Reactivo de cloruro férrico	Positivo
Alcaloides	Dragendorff	Negativo

Fuente: Elaboración propia

Previa a la formulación de la crema y considerando que esta tiene como finalidad el tratamiento de heridas se hizo las siguientes consideraciones como características que debe reunir nuestra forma farmacéutica con extractos de chiqchilla:

- La crema debe ser una emulsión O/W, por no ser oclusivas.
- Ser altamente evanescente.
- Permitir la incorporación de altas concentraciones de extracto sin separación de fases.

Teniendo ello en cuenta se ensayaron varias formulaciones de emulsiones no iónicas ya que la bibliografía las considera más estables, evanescentes y de muy buen aspecto. Se consideró la crema de lanette, base Beeler y la de ácido esteárico. Siendo esta la elegida por su buena capacidad de incorporar a nuestro extracto. La crema de lanette resulto muy consistente y la crema de Beeler muy inestable.

Las siguientes fueron las formulaciones de crema de ácido esteárico preparadas:

Formula 1

Ácido esteárico	32 g
Trietanolamina	1.6 g
Glicerina	10 g
Extracto de Aloysia spathulata	20 g
Metilparaben	0.02 g
Propilparaben	0.08 g
Metabisulfito sódico	0.1 g
Agua destilada csp	100 g

Formula 2

Ácido esteárico	24g
Trietanolamina	1.2 g
Glicerina	10 g
Extracto de Aloysia spathulata	20 g
Metilparaben	0.02 g
Propilparaben	0.08 g
Metabisulfito sódico	0.1 g
Agua destilada csp	100 g

Formula 3 (Final)

Ácido esteárico	16 g
Trietanolamina	0.8 g
Glicerina	10 g
Extracto de Aloysia spathulata	20 g
Metilparaben	0.02 g
Propilparaben	0.08 g
Metabisulfito sódico	0.1 g
Agua destilada csp	100 g

Formula 4

Ácido esteárico	8 g
Trietanolamina	0.4 g
Glicerina	10 g
Extracto de Aloysia spathulata	20 g
Metilparaben	0.02 g
Propilparaben	0.08 g
Metabisulfito sódico	0.1 g
Agua destilada csp	100 g

La fórmula final fue la número 3, ya que la 1 y 2 resultaron muy consistentes y de difícil extensibilidad, y la 4 de poca consistencia, casi líquida y se observó un proceso de cremado en la superficie ruptura de fases al cabo de 15 días. En cambio la fórmula N° 3 cumplía los criterios antes citados.

El procedimiento de elaboración de la crema fue :

- Pesada de los materiales para la elaboración de la crema

Figura N° 17: Pesada de los materiales

- Calentar a baño maría en un vaso de precipitados con capacidad suficientes la fase oleosa constituida por el ácido esteárico a aproximadamente 70°C .
- Por otra parte reunir en un vaso la fase acuosa constituida por el agua destilada en la que se disuelve la glicerina, metilparaben, propilparaben, metabisulfito sódico y la trietanolamina. Calentar esta fase también en baño maría a 70°C .
- Emulsionar añadiendo la fase acuosa sobre la oleosa.

Figura N° 18: Calentamiento de ambas fases a 70°C .



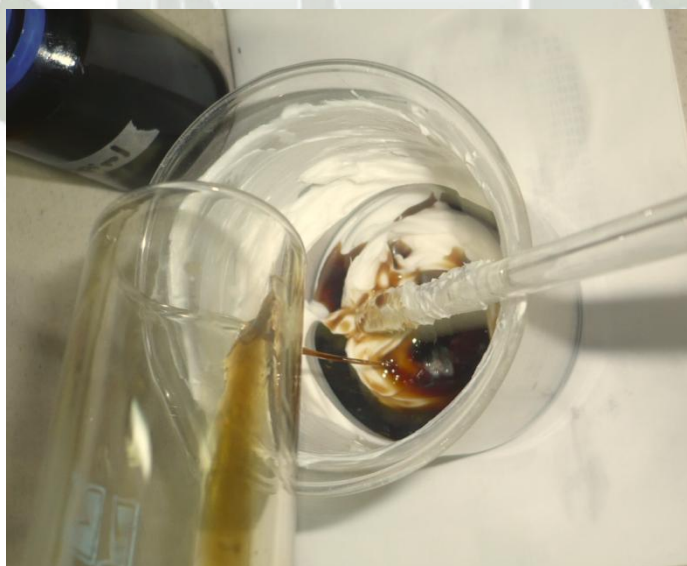
- Una vez emulsionada retirar el vaso que contiene ambas fases y seguir agitando el sistema de emulsión hasta su enfriamiento.

Figura N° 19: Proceso de emulsificación.



- Cuando la crema obtenida este totalmente fría incorporar el extracto poco a poco mediante agitación continua.

Figura N° 20: Incorporación del extracto.



- Finalmente homogenizar mediante agitación constante y envasar.

Figura N° 21: Cremas con extractos, etanólico (der.) y de propilenglicol (izq.)



Con los extractos y las cremas obtenidas se procedió a evaluar el efecto cicatrizante de los mismos en animales de experimentación, mediante el método tensiométrico sobre heridas incisas realizadas experimentalmente.

3.2. AMBITO ESPACIAL

La parte experimental o de campo del presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Control de Calidad y el Bioterio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

3.3. AMBITO TEMPORAL

La realización del presente trabajo de investigación y la recolección de la información se realizó durante los meses de setiembre a noviembre de 2012.

Cuadro N°3: Parámetros de Distribución del Método Tensiométrico Aplicado al Grupo Control

Variable	Estadísticos	Valor
Gramos de arena del grupo control	Conteo total	7
	Media	143.8
	Mediana	151.3
	Desv. Est.	36.5
	Varianza	1134.5
	Mínimo	95.20
	Máximo	186.2
	Rango	90.90

Fuente: Elaboración propia en Minitab 16.2.2 ver. 2010

El cuadro N°3 muestra los parámetros de distribución del método tensiométrico expresado en gramos de arena aplicado al grupo control, este grupo estuvo constituido por 7 heridas que en el cuadro corresponde al conteo total, heridas que no recibieron tratamiento alguno. El promedio o media es de 143.8 gramos de arena, un no an alejado de la mediana. La desviación estándar es de 36.5 valor bajo en comparación a los otros grupos (véase más adelante), más aún si se toma en cuenta al rango de 90.90 proveniente de la sustracción del valor máximo y mínimo de 95.20 y 186.2 gramos respectivamente.

Esta baja dispersión de los datos probablemente se deba a la uniformidad del proceso de cicatrización en las heridas que no fueron sometidas a tratamiento alguno.

Cuadro N°4: Parámetros de Distribución del Método Tensiométrico aplicado al Grupo Base crema

Variable	Estadísticos	Valor
Gramos de arena del grupo control	Conteo total	7
	Media	160.43
	Mediana	165.84
	Desv. Est.	35.24
	Varianza	1242.22
	Mínimo	102.19
	Máximo	201.30
	Rango	99.11

Fuente: Elaboración propia en Minitab 16.2.2 ver. 2010

El cuadro N°4 muestra los parámetros de distribución del método tensiométrico expresado en gramos de arena aplicado al grupo tratado solamente con la base de la crema, este grupo estuvo también constituido por 7 heridas que en el cuadro corresponde al conteo total. El promedio es de 160.43 gramos de arena, la mediana de 165.84. La desviación estándar es de 35.24, un rango de 99.11 proveniente de la sustracción del valor máximo y mínimo de 102.19 y 201.3 gramos respectivamente.

Concluimos que para este grupo de tratamiento la media desde 160.43, valor que está por encima del grupo control, posiblemente la crema base tenga una mínima actividad sobre el efecto cicatrizante.

Cuadro N°5: Parámetros de distribución del método tensiométrico aplicado al grupo con crema de extracto etanólico

Variable	Estadísticos	Valor
Gramos de arena del grupo con crema de extracto etanólico	Conteo total	7
	Media	239.7
	Mediana	226.8
	Desv. Est.	39.1
	Varianza	1532.3
	Mínimo	188.8
	Máximo	296.1
	Rango	107.3

Fuente: Elaboración propia en Minitab 16.2.2 ver. 2010

El cuadro N°5 muestra los parámetros de distribución del método tensiométrico expresado en gramos de arena aplicado al grupo tratado con una crema O/W que contenía 20% de extracto etanólico, este grupo – al igual que todos – estuvo constituido por 7 heridas. El promedio o media es de 239.7 gramos de arena, y la mediana que es de 226.8g. La desviación estándar es de 39.1 valor más elevado en comparación al grupo control y al del extracto etanólico (ver siguientes tablas), evidencia de ello es el rango de 107.3 gramos, el valor mínimo fue de 188.8 y el máximo de 296.1.

Podemos concluir que para este grupo de tratamiento se requirió más gramos de arena en comparación con el control, las diferencias entre ambos grupos se observaran luego del análisis de ANOVA y prueba de Tukey. La dispersión también es mayor probablemente a las variaciones interindividuales de los animales de experimentación en tanto su respuesta al tratamiento.

Cuadro N°6: Parámetros de distribución del método tensiométrico aplicado al grupo con crema de extracto de propilenglicol

Variable	Estadísticos	Valor
Gramos de arena del grupo con crema de extracto de propilenglicol	Conteo total	7
	Media	248.1
	Mediana	245.8
	Desv. Est.	51.4
	Varianza	2645.2
	Mínimo	189.6
	Máximo	310.6
	Rango	121.0

Fuente: Elaboración propia en Minitab 16.2.2 ver. 2010

El cuadro N°6 muestra los parámetros de distribución del método tensiométrico en gramos de arena aplicado al grupo tratado con una crema O/W que contenía 20% de extracto de propilenglicol, la base de la crema de este grupo fue la misma para el grupo tratado con crema con extracto etanólico. El promedio o media es de 248.10 gramos de arena, la mediana tiene un valor de 245.8. La desviación estándar es de 51.4 valor más elevado en comparación al grupo control y al de los otros grupos investigativos (ver siguientes tablas), evidencia de ello es el rango de 121.0 gramos, el valor mínimo fue de 189.6 y el máximo de 310.6.

Podemos concluir que para este grupo de tratamiento y el anterior, se requirió más gramos de arena en comparación con el control, las diferencias entre estos grupos se observaran luego del análisis de ANOVA y prueba de Tukey. La dispersión también es mayor probablemente a las variaciones interindividuales de los animales de experimentación al tratamiento.

Cuadro N°7: Parámetros de distribución del método tensiométrico aplicado al grupo con extracto etanólico

Variable	Estadísticos	Valor
Gramos de arena del grupo con extracto etanólico	Conteo total	7
	Media	136.7
	Mediana	128.7
	Desv. Est.	28.3
	Varianza	802.0
	Mínimo	112.3
	Máximo	194.0
	Rango	81.6

Fuente: Elaboración propia en Minitab 16.2.2 ver. 2010

El cuadro N°7 muestra los parámetros de distribución del método tensiométrico en gramos de arena aplicado al grupo tratado solo con extracto etanólico, este extracto fue obtenido mediante el método del Soxhlet con posterior concentración, obteniendo finalmente un extracto fluido (1:5). El promedio o media es de 136.7 gramos de arena, la mediana tiene un valor de 128.7. La desviación estándar es de 28.3 que resulta un valor más bajo en comparación con los grupos tratados con las cremas elaboradas con los extractos. Este valor es el más cercano al grupo control. El rango es de sólo 81.6, el valor mínimo fue de 112.30 y el máximo de 194.00.

Podemos concluir que para este grupo de tratamiento se requirió menos gramos de arena en comparación con las cremas elaboradas, incluso debajo del valor correspondiente al grupo control. En cuanto a la dispersión esta es menor, probablemente se debe a la eficacia nula de este extracto, y se deba más a la respuesta fisiológica del animal ante la injuria.

Cuadro N°8: Parámetros de distribución del método tensiométrico aplicado al grupo con extracto de propilenglicol

Variable	Estadísticos	Valor
Gramos de arena del grupo con extracto de propilenglicol	Conteo total	7
	Media	144.70
	Mediana	131.90
	Desv. Est.	45.50
	Varianza	2067.00
	Mínimo	98.10
	Máximo	235.20
	Rango	137.00

Fuente: Elaboración propia en Minitab 16.2.2 ver. 2010

El cuadro N°8 muestra los parámetros de distribución del método tensiométrico en gramos de arena aplicado al grupo tratado solo con extracto de propilenglicol, este extracto fue obtenido mediante el método de maceración, obteniendo finalmente una forma extractiva al 20%. El promedio o media es de 144.70 gramos de arena, la mediana tiene un valor de 131.90. La desviación estándar es de 45.50, valor relativamente alto. El rango es de 137.00, el valor mínimo fue de 98.10 y el máximo de 235.20.

Podemos concluir que para este grupo de tratamiento se requirió menos gramos de arena en comparación con las cremas elaboradas, muy similar al valor del grupo control y cercano al extracto etanólico.

Cuadro N°9: Parámetros de distribución del método tensiométrico aplicado al grupo con MUCOVIT®

Variable	Estadísticos	Valor
Gramos de arena del grupo con Mucovit	Conteo total	7
	Media	247.24
	Mediana	248.61
	Desv. Est.	22.14
	Varianza	490.28
	Mínimo	206.13
	Máximo	270.25
	Rango	64.12

Fuente: Elaboración propia en Minitab 16.2.2 ver. 2010

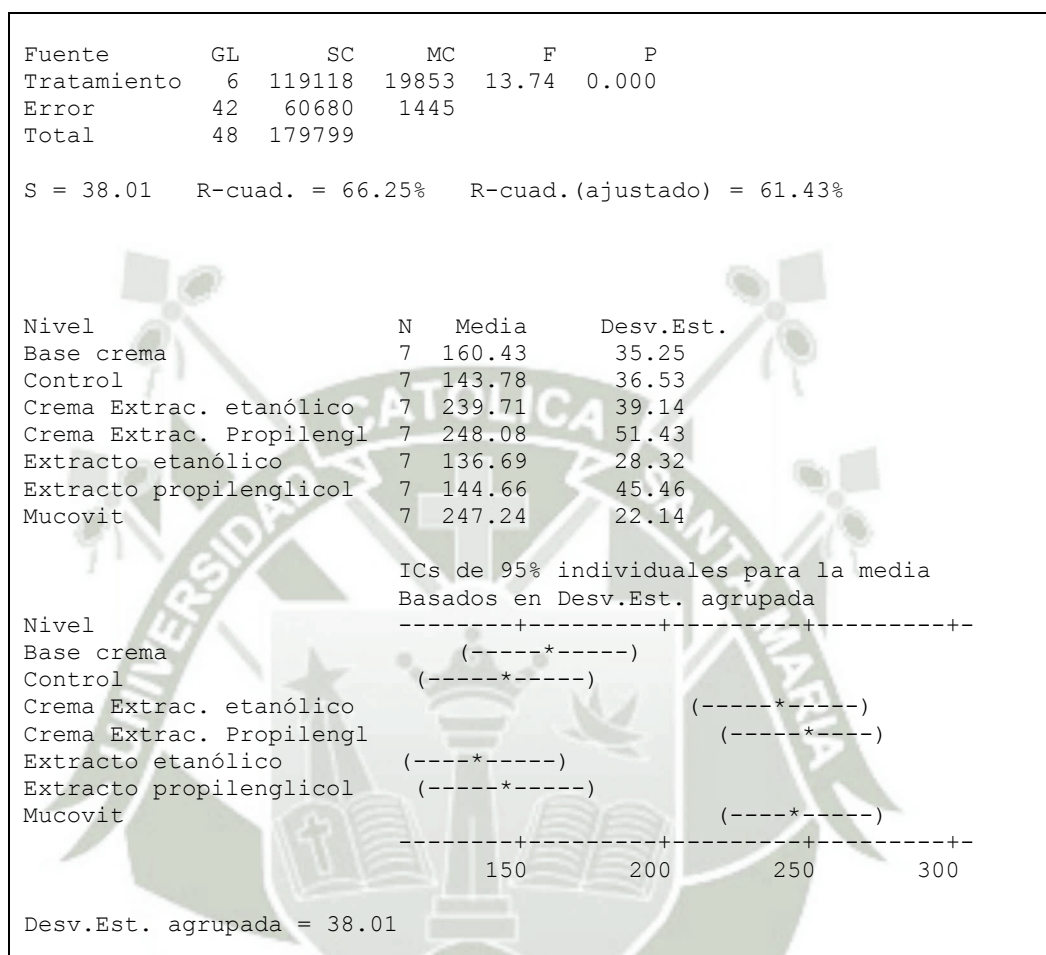
El cuadro N°9 muestra los parámetros de distribución del método tensiométrico en gramos de arena aplicado al grupo tratado con un medicamento comercial cuyo nombre es Mucovit®, este medicamento tiene la misma forma farmacéutica, es decir una crema. El promedio o media es de 247.24 gramos de arena, la mediana tiene un valor de 248.61. La desviación estándar es de 22.14, que resulta el valor más bajo de todos los grupos. El rango es de sólo 64.12, el valor mínimo fue de 206.13 y el máximo de 270.25.

Podemos concluir que para este grupo de tratamiento se requirió más gramos de arena, tantos como los grupos tratados con las cremas elaboradas; y los resultados son más homogéneos, es decir, menos dispersos.

Para ver las diferencias significativas entre los distintos grupos de tratamiento se aplicó ANOVA con el fin de hacer una comparación entre medias y evaluar si hay diferencias significativas entre los distintos grupos investigativos practicados en los animales de experimentación.

El cuadro N°10 muestra el ANOVA de todos los grupos, este análisis fue calculado mediante el programa estadístico Minitab 16, el cuadro es la ventana flotante de dicho software.

Cuadro N°10: Método ANOVA aplicado a los siete grupos experimentales del efecto cicatrizante mediante el método tensiométrico (gramos de arena).



Fuente: Elaboración propia en Minitab 16.2.2 ver. 2010

En la parte superior del cuadro N°10 se muestra los resultados estadísticos del ANOVA observamos que $p=0.000$, es decir, $p<0.05$ por lo que es menor al nivel predeterminado de significancia (nivel α), en este caso se rechaza la hipótesis nula y se da crédito a la alternativa, que señala que existen diferencias significativas entre los grupos de tratamiento.

En la parte inferior se encuentran los intervalos de confianza individual del 95%, se observa que algunos intervalos no se superponen y otros si, de lo que se deduce que algunas medias no son estadísticamente diferentes, lo que hace necesaria

una prueba de comparación múltiple o de Tukey para ver donde existen diferencias entre los promedios de los gramos de arena de los distintos grupos experimentales.

Cuadro N°11: Test de Tukey aplicado a los siete grupos experimentales del efecto cicatrizante mediante el método tensiométrico (gramos de arena)

Agrupar información utilizando el método de Tukey

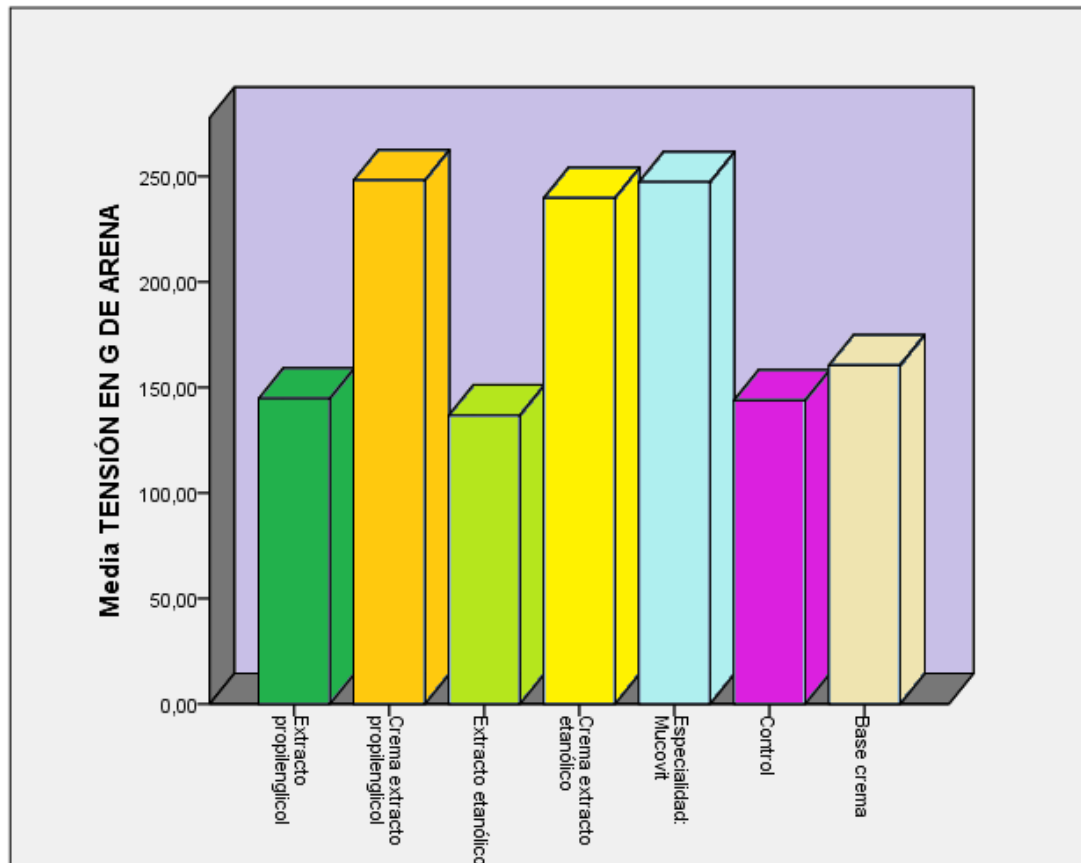
Tratamiento	N	Media	Agrupación
Crema Extrac. Propilenglicol	7	248.08	A
Mucovit	7	247.24	A
Crema Extrac. etanólico	7	239.71	A
Base crema	7	160.43	B
Extracto propilenglicol	7	144.66	B
Control	7	143.78	B
Extracto etanólico	7	136.69	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Fuente: Elaboración propia en Minitab 16.2.2 ver. 2010

Al aplicar el Test de Tukey para los distintos grupos experimentales observamos que no existen diferencias significativas entre los grupos tratados con las cremas con extractos (etanólico y propilenglicol) y el Mucovit®; pese a que el grupo tratado con crema con extracto de propilenglicol tiene una media “aparentemente” mayor respecto a los otros dos grupos. Por otra parte no existen diferencias entre el grupo control, el grupo con crema base, el tratado con extracto etanólico y con extracto glicólico. Estos tres grupos son a su vez diferentes estadísticamente de los tres primeros. Por lo tanto podríamos asumir que los tratamientos consistentes en cremas con extractos (etanólico y glicólico) tienen una eficacia similar a la crema Mucovit®; y el grupo tratado con crema con extracto glicólico de chiqchilla tienen la media de gramos de arena ligeramente más alta respecto a este último.

Gráfico 1: Gráfico de barras de los promedios de gramos de arena vs los tratamientos experimentales



Fuente: Elaboración propia

3.4. DISCUSIÓN

El conocido texto de Farmacia: Remington define al Químico Farmacéutico entre varias definiciones como el “perito” en medicamentos, la interpretación de esta afirmación no puede limitarse a un profesional que “sabe” sobre las propiedades farmacológicas de los medicamentos – este término entendido en sentido amplio – sino aquel que tiene que ver con todo lo relacionado al medicamento. En este sentido el Farmacéutico es el único profesional competente para la investigación de las plantas medicinales, aspecto importante para la Fitoterapia que es la ciencia que estudia la aplicación de las plantas en el tratamiento de enfermedades del ser humano ⁽¹⁶⁾.

La población de Cotahuasi utiliza un recurso vegetal endémico conocido como chiqchilla, cuyo nombre científico es *Aloysia spathulata* ⁽⁴⁰⁾, la población utiliza esta planta curativa moliendo las hojas y aplicado a manera de compresas ⁽²⁹⁾, a partir de esta utilización se realizó la presente investigación utilizando dos extractos provenientes de dos tipos de métodos extractivos utilizando distintos disolventes. Luego de la presentación de los resultados se observó que fueron las cremas conteniendo los extractos (extracto de propilenglicol al 20% y extracto etanólico al 20%) las que presentaron actividad cicatrizante medida mediante el método tensiométrico en gramos de arena, comparable a una forma farmacéutica.

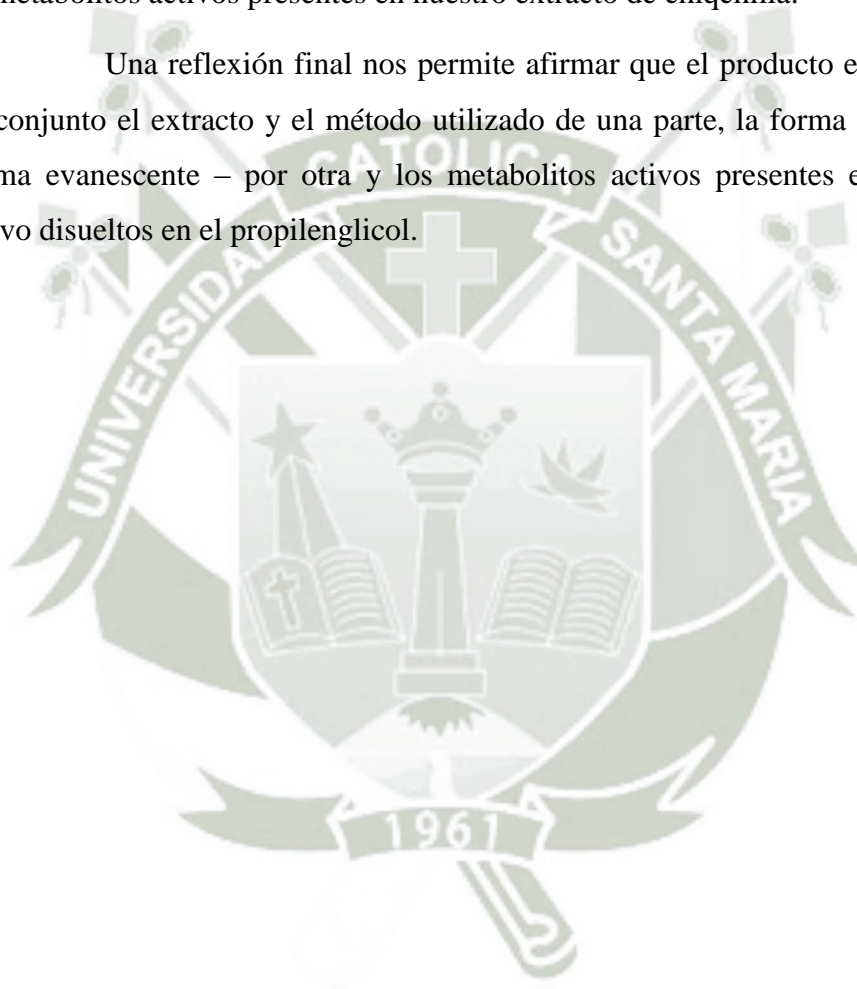
Probablemente la forma farmacéutica también fue relevante en comparación con los extractos puros, ya que esta permite al complejo activo permanecer mayor tiempo en el lugar de la herida incisa, en cambio los extractos luego de su aplicación se “corren” por la piel del animal e incluso es lamido por ellos, permaneciendo por lo tanto brevemente en el lugar de la lesión.

El análisis cualitativo preliminar realizado mediante cromatografía en capa fina determinó la presencia de flavonoides, terpenos y taninos. Probablemente los flavonoides con su conocida actividad antioxidante contribuirían mejorando la lesión capturando los radicales libres, provenientes del proceso inflamatorio que acontece en una lesión, además de su capacidad antimicrobiana. Los taninos por vía externa son conocidos metabolitos cicatrizantes, ya que por su tamaño molecular se

interponen entre las fibras de colágeno del lugar de la lesión impidiendo la acción bacteriana y creando una barrera protectora de la herida.

Estos resultados se apoyan además en el trabajo de investigación denominado “Efecto cicatrizante del Gel a base de hojas de Cketo Cketo en animales de experimentación”, en el cual se evaluó dicho efecto bajo el mismo modelo del presente estudio y a pesar de que en este trabajo se utilizó como forma farmacéutica un gel con extracto etanólico logrado mediante el método de percolación; también se detectó la presencia de terpenos, taninos y flavonoides, esto es, las mismas familias de metabolitos activos presentes en nuestro extracto de chiqchilla.

Una reflexión final nos permite afirmar que el producto elaborado actuó en conjunto el extracto y el método utilizado de una parte, la forma farmacéutica – crema evanescente – por otra y los metabolitos activos presentes en el complejo activo disueltos en el propilenglicol.





CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

PRIMERA

Se evaluó el efecto cicatrizante de los extractos (fluido y glicólico) y crema de hojas de *Aloysia spathulata* (chiqchilla) en heridas incisas inducidas en animales de experimentación, encontrando que la crema con extracto glicólico de chiqchilla al 20% tiene mayor promedio de cicatrización, expresado en gramos de arena mediante el método tensiométrico.

SEGUNDA

Mediante el análisis cualitativo preliminar de cromatografía en capa fina sobre el extracto de *Aloysia spathulata* (chiqchilla) se determinó la presencia de flavonoides, terpenos y taninos, posibles responsables de su actividad cicatrizante.

TERCERA

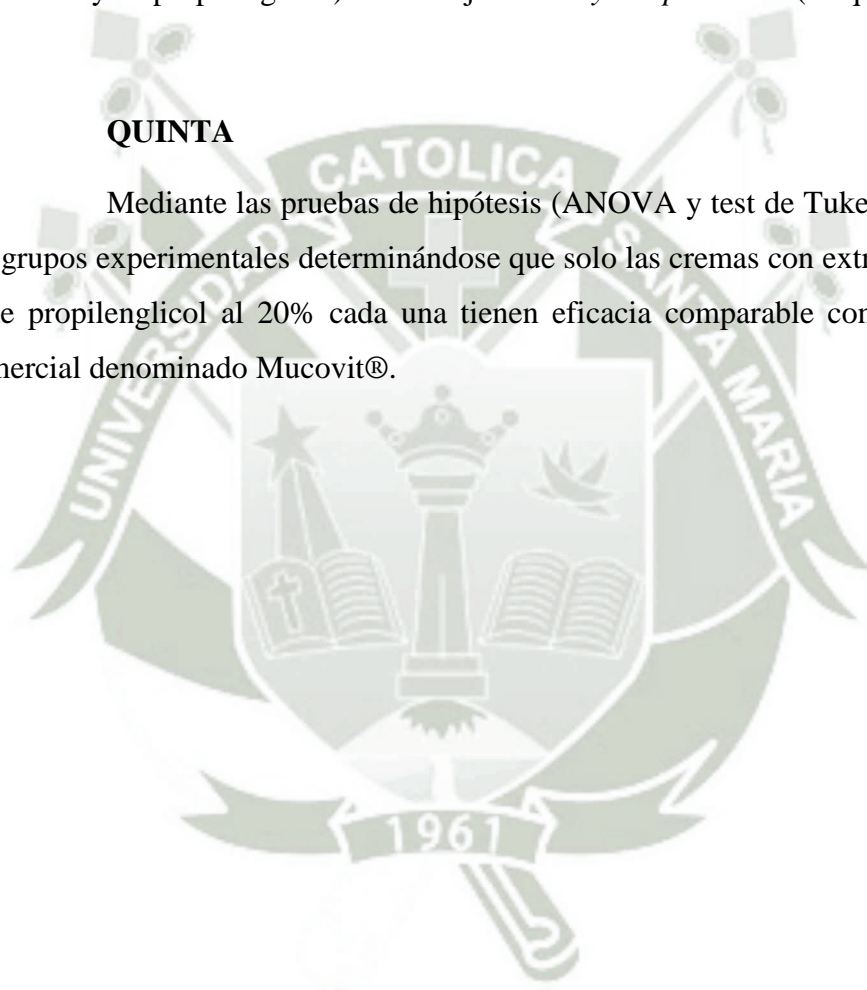
Ninguno de los extractos puros (etanólico y de propilenglicol) de las hojas de *Aloysia spathulata* (chiqchilla) presenta actividad cicatrizante significativa, ya que muestran resultados comparables al grupo control.

CUARTA

Se logró formular una crema O/W conteniendo 20% de los extractos (etanólico y de propilenglicol) de las hojas de *Aloysia spathulata* (chiqchilla).

QUINTA

Mediante las pruebas de hipótesis (ANOVA y test de Tukey) se comparó los grupos experimentales determinándose que solo las cremas con extracto etanólico y de propilenglicol al 20% cada una tienen eficacia comparable con el preparado comercial denominado Mucovit®.



SUGERENCIAS

PRIMERA

Realizar estudios de control de calidad y estabilidad controlados a las cremas O/W con extractos etanólico y de propilenglicol de *Aloysia spathulata* (chiqchilla).

SEGUNDA

Determinar la actividad cicatrizante de las cremas O/W con extractos etanólico y de propilenglicol de *Aloysia spathulata* (chiqchilla) en otras especies de animales con el fin de confirmar el presente estudio, y posteriormente realizar investigaciones clínicas de Fase I en humanos sanos voluntarios.

FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

1. Agarwal P, Gurav K, Khanna H, Goel R. Evaluation of wound healing activity of extracts of plantain banana (*Musa sapientum* var. *Paradisiaca*) in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2009; 47, pp 32-40.
2. Ahmad and Owais. *Modern Phytomedicine*, Wiley-VCH Press. 2006.
3. Aldave Pajares Augusto; Mostacero León José. *Botánica Farmacéutica*. 1ª Edición. Lima, Perú: Editorial Libertad; 1988.
4. Barnes Joanne, Anderson Linda y Phillipson David. *Herbal Medicines*. 3ª Edición, Pharmaceutical Press; 2007.
5. Barua C, Talukar A, Begum S, Sarma D, Bora R. Wound healing activity of methanolic extract of leaves of *Alternanthera brasiliensis* Kuntz using *in vivo* and *in vitro* model. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2009; 23, pp 1001-1005.
6. Brack Egg Antonio. *Diccionario Enciclopédico De Plantas Útiles Del Perú*. 1ª Edición. Lima Perú: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas; 1999.
7. Bravo Díaz Luis. *Farmacognosia*. 1ª Edición. Madrid, España: Editorial Elsevier; 2003.
8. Bruneton J. *Farmacognosia Fitoquímica plantas medicinales*. 2ª Edición. Madrid España: Editorial Acribia S.A.; 2001.
9. Brunicardi Charles (Editor): *Schwartz Principios De Cirugía*. 8ª Edición. Editorial McGraw Hill. 2005.
10. C. Rozman. *Compendio De Medicina Interna*, 2ª Edición. Ediciones Harcourt S.A. 2002.
11. Carrasco Díaz S. *Metodología De La Investigación Científica*, 1ª Edición. Lima, Perú: Editorial San Marcos; 2005.
12. Castillo García B.: *Métodos Analíticos Y Técnicas Instrumentales Empleados En El Aislamiento, Identificación Y Cuantificación De Los Principios Activos*

- Presentes En Plantas Medicinales. 1ª Edición. Edición Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos de España; 2001.
13. Cornejo Rodríguez, Christian Paul & Pinto Arrieta, Ana Cecilia “Efecto cicatrizante del Gel a base de hojas de (Gamacheta) Cketo Cketo en animales de experimentación Farmacia y bioquímica 2011”,
 14. Daniel Wayne. Bioestadística, Base Para El Análisis De Las Ciencias De La Salud. 4ª Edición. México: Editorial Limusa S.A. 2007.
 15. Domínguez Suárez A. & otros. “Efecto Cicatrizante De Extracto Fluido De Hojas De Siempre Viva” Facultad de Ciencias Médicas de Matanzas. Argentina 2001.
 16. Farahpour M, Habibi M. Evaluation of the wound healing activity of an ethanolic extract of *Ceylon cinnamon* in mice. *Veterinarni Medicina*. 2012; 57, pp 53-57.
 17. Farreras Rozman. Medicina Interna, 13ª Edición. Editorial Elsevier; 2003.
 18. Flores Ojeda M. & Manrique Rodriguez S. “Evaluación Del Efecto Cicatrizante del extracto y gel de *Calceolaria Lobata* (Borragilla) En Animales De Experimentación”. Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Universidad Católica de Santa María. Arequipa 2010.
 19. Guillermo F.; Bonilla P. y Arroyo J. “Efecto cicatrizante del tallo subterráneo *Peperomia scutellaefolia* p. en geles aplicados a *Ratus norvegicus*” Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima 2005.
 20. Kukllinski C. Farmacognosia, Estudio De Las Drogas Y Sustancias Medicamentosas De Origen Natural, 1ª Edición. Ediciones Omega S.A. 2000.
 21. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica Métodos En El Estudio De Productos Naturales. 1ª Edición. Lima Perú: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 1988.
 22. Manual CTO De Medicina y Cirugía, 6ª Edición. Editorial McGraw-Hill; 2005.
 23. Makkar H., Siddhuraju and Klaus Becker. Plant Secondary Metabolites, First Edition. Humana Press. 2007.
 24. Marcano Deanna y Hasegawa Masahisa. Fitoquímica Orgánica. 2ª Edición. Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico; 2002.

25. Méndez Martínez & Col.: “efecto cicatrizante de la pomada preparada con *Dorstenia drakena* l. (moraceae) en heridas cutáneas”. Universidad Autónoma de México 2008.
26. Ministerio de Sanidad y Consumo de España. Formulario Nacional, 1ª Edición. Editorial Ministerio de Sanidad y Consumo de España; 2003.
27. Mostacero J.; Mejía F.; Gamarra O. Taxonomía De Las Fanerógamas Útiles Del Perú. 1ª Edición. Editorial Normas Legales S.A.C. Perú; 2002.
28. Oryan A, Naeni A, Nikahval B, Gorhjian E. Effect of aqueous extract of *Aloe Vera* on experimental cutaneous wound healing in rat. *Veterinari Medicinal*. 2010; 80, pp 509-522.
29. Paredes M.; Veliz A. “Efecto Cicatrizante De Un Preparado Dermatológico A base de baba de caracol *Helix aspersa* en heridas de piel producidas experimentalmente”. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Católica de Santa María. Arequipa 2007.
30. Parrilla Paricio P. & Landa García J. (Directores): Cirugía AEC. 2ª Edición. Editorial Médica Panamericana, S.A. España; 2010.
31. Polit Hungler. Investigación Científica en Ciencias de la Salud. Sexta Edición. Editoria Mc Graw-Hill Interamericana. México 2000.
32. Rowe R.; Sheskey P. & Owen S. (Editores). Handbook Of Pharmaceutical Excipients. 5ª Edición. Pharmaceutical Press; 2006.
33. Sharapin Nikolai. Fundamentos De Tecnología De Productos Fitoterapéuticos. 1ª Edición. CYTED; 2000.
34. Shivananda N, Marshall J, Isitor G. Wound healing potential of ethanolic extract of *Kalanchoe pinnata* Lam. Leaf- A preliminary study. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2010; 48, pp 572-576.
35. Skoog D.; Leary J. Análisis Instrumental. 6ª Edición. Editorial Latinoamericana; 2008.
36. Soriano M, Bonilla P, Arroyo J, Peryra S. Actividad cicatrizante Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed. *Folia dermatol*. 2004; 15(3): pp. 155-159.

37. Tejada Cano M. (Director). Estudio de la biodiversidad Cuenta Del Cotahuasi: La Unión Arequipa Flora Medicinal. 1ª Edición. Asociación Especializada para el desarrollo; 1998.
38. Vijaya R, Kumudha B, Suseela L, Thirumal M. Antioxidant and wound healing studies on different extracts of *Stereospermum colais* leaf. Res. Pharm Sci. 2010; 1, pp 435-439.
39. Vila Jato José Luis (Editor). Tecnología Farmacéutica. 1ª Edición. Editorial SINTESIS S.A.; 2001.





ANEXO N°1: GRAMOS DE ARENA DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

Extracto propilenglicol	Heridas		Gramos de arena
	1		120.32
	2		98.12
	3		145.16
	4		115.83
	5		235.15
	6		166.13
	7		131.91
	Total	N	7

Crema extracto propilenglicol	Heridas		Gramos de arena
	1		310.63
	2		189.62
	3		245.80
	4		199.92
	5		203.63
	6		301.12
	7		285.86
	Total	N	7

Extracto etanólico	Heridas		Gramos de arena
	1		128.66
	2		123.19
	3		151.21
	4		112.33
	5		193.96
	6		132.25
	7		115.21
	Total	N	7

Crema extracto etanólico	Heridas		Gramos de arena
	1		226.76
	2		296.12
	3		188.80
	4		203.13
	5		226.37
	6		275.15
	7		261.62
	Total	N	7

Especialidad: Mucovit	Heridas		Gramos de arena
	1		267.44
	2		236.67
	3		206.13
	4		270.25
	5		260.15
	6		248.61
	7		241.42
	Total	N	7

Control	Heridas		Gramos de arena
	1		127.70
	2		178.58
	3		95.22
	4		101.14
	5		151.29
	6		186.15
	7		166.35
	Total	N	7

ANEXO N°1: ESTADÍSTICOS APLICADOS A LA INVESTIGACIÓN

Parámetros de distribución

Promedio ⁽³²⁾

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n}$$

Parámetros de dispersión ⁽³²⁾

Varianza

$$S^2 = \frac{\sum (\bar{X} - X)}{n - 1}$$

Desviación estándar

$$D.S. = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - X)^2}{n - 1}}$$

Análisis de varianza

Prueba de Tukey ⁽³²⁾

$$Tukey = q\alpha(p, v) \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Procesos del material vegetal



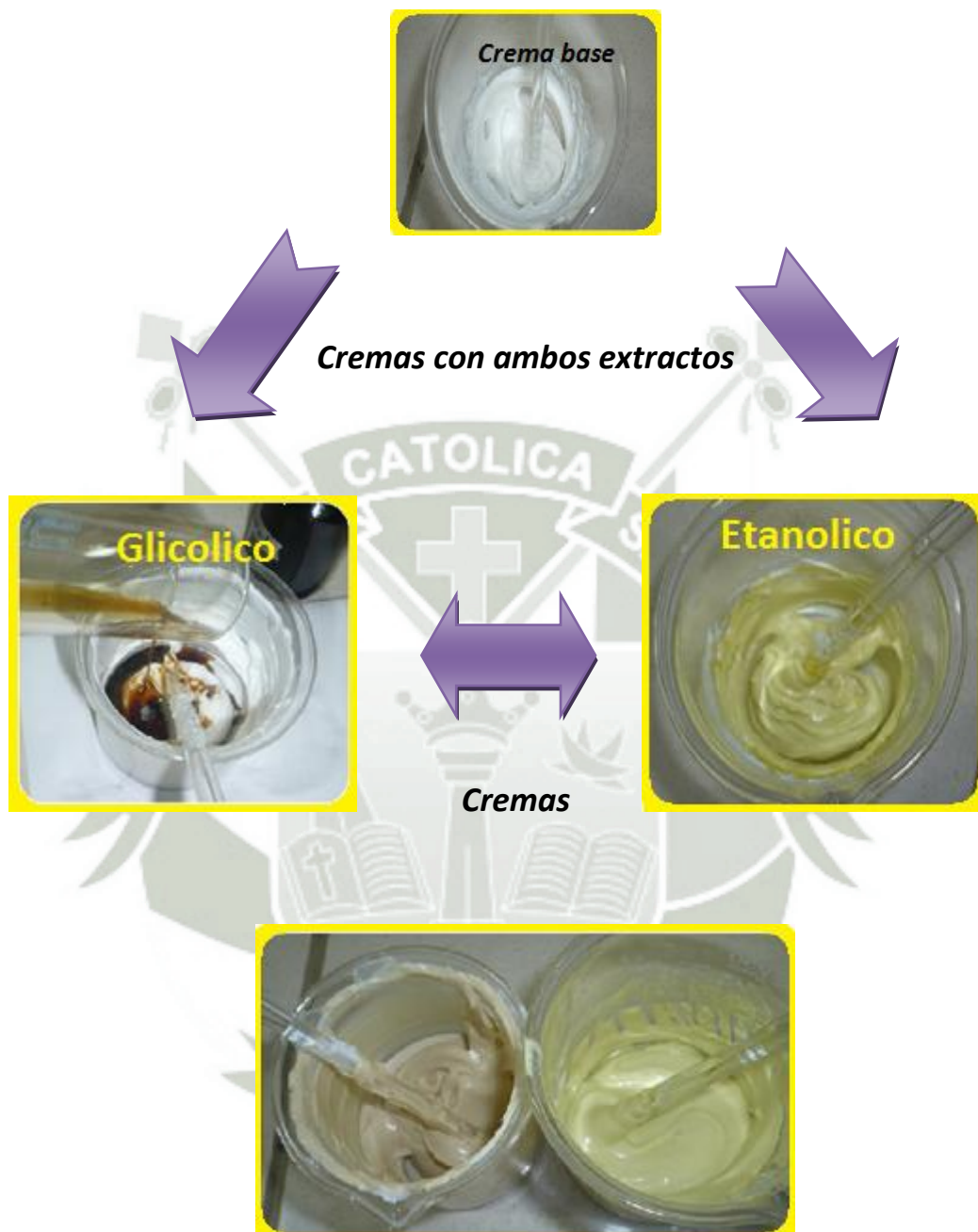
Extracción



Extractos



Formulación de las cremas



Proceso de incisión de las heridas



Tratamientos

Con extractos



Con extractos



Resistencia de cicatrización

