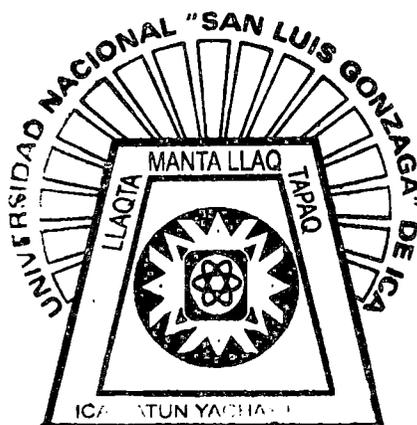


**UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA**  
**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**ELABORACION DE UNA FORMA FARMACÉUTICA SEMISÓLIDA CON  
ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA A PARTIR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE  
LAS HOJAS DE *Senecio nutans* Schulz Bipontinus "CHOCRA"**

***TESIS:***

***PARA OPTAR EL TÍTULO DE:***  
**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTORES:**

**Bach. NUÑEZ CÁRDENAS KATIA PILAR**

**Bach. ROMERO CRUZ TERESA DE LOS SANTOS**

**ICA - PERÚ**

**2015**

*-Al Padre Eterno que me enseñó a caminar bajo su dirección fortaleciéndome para la culminación de este trabajo.*

*- A mis padres, hermanas y cada miembro de mi familia como primeros partícipes de mi formación profesional por el apoyo desmedido que me brindaron para alcanzar mi meta trazada.*

*Bach. Katia Pilar Núñez Cárdenas*

*A Dios mi eterno guía de vida y mi familia por brindarme apoyo y realizar sacrificios durante mi formación profesional.*

*Bach. Teresa De Los Santos Romero Cruz*

## AGRADECIMIENTOS

- \* A nuestras queridas asesoras:

*Mg. Luísa Revata Salas, Mg. Carmela Ferreyra Paredes, Dra. Hayde Chávez Orellana*, por impartirnos sus sabios conocimientos y darnos el apoyo necesario durante la ejecución de este proyecto.

- \* Un agradecimiento muy especial a quienes desinteresadamente no midieron su tiempo ni las circunstancias para brindarnos gran ayuda en la realización de este trabajo: Q.F. Manuel Valle Campos, Q.F. Felipe Surco Laos.

- \* Al Laboratorio de Microbiología de la facultad de Ciencias de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica y al personal técnico por su orientación y servicios prestados desinteresadamente durante la investigación de la parte Antimicrobiana de nuestra tesis.

## RESUMEN

La muestra en estudio fue recolectada en el distrito de Puquio, departamento de Ayacucho. De las hojas de *Senecio nutans Schulz Bipontinus* "chocra" se obtuvieron dos tipos de extracto etanólico: extracto fluido etanólico y extracto blando etanólico, por el método de maceración. Se realizó un screening fitoquímico en el cual se identificaron los siguientes metabolitos secundarios: flavonoides, grupos aminos libres, triterpenos y esteroides, alcaloides, catequinas y grupos fenólicos libres. Se determinó la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico mediante el método de edema plantar inducido por carragenina, obteniéndose un 59.98% de efecto antiinflamatorio a una dosis de 300mg/Kg. Posteriormente se realizó la pre formulación, y se determinaron las características fisicoquímicas y de solubilidad de los extractos etanólicos. Se elaboraron tres tipos de formas farmacéuticas semisólidas y se seleccionó la pomada como formulación a preparar; por mejor compatibilidad y estabilidad. Las pomadas elaboradas fueron; pomada al 30% de extracto blando etanólico y pomada al 30% de extracto fluido etanólico. De entre ambas formulaciones se escogió la pomada elaborada al 30% de extracto blando etanólico debido a que obtuvo un 44% de efecto antiinflamatorio en el modelo de edema plantar en ratas. Se realizaron controles al producto terminado el cual cumplió con todas las especificaciones físicas, químicas y criterios de aceptación microbiológicos; con 20 UFC/mL de hongos/levaduras y 190 UFC/mL de aerobios totales.

Palabras claves: *Senecio nutans*, actividad antiinflamatoria, pomada, modelo de edema plantar, forma farmacéutica semisólida, control de producto terminado.

## ABSTRACT

The study sample was collected in the district of Puquio, Ayacucho. Ethanolic extract fluid and soft ethanol extract by the method of maceration: the leaves of *Senecio nutans* Schulz Bipontinus "chocra" two types of ethanol extract was obtained. Flavonoids, free amino groups, triterpenes and steroids, alkaloids, catechins and phenolic groups free: a phytochemical screening in which the secondary metabolites were identified following was performed. Antiinflammatory activity of ethanol extract was determined by the method of carrageenan-induced edema, obtaining an anti-inflammatory effect of 59.98% at a dose of 300mg / Kg. Subsequently the formulation was performed pre and the physicochemical and solubility characteristics of the ethanol extracts were determined. Three types of semi-solid dosage forms were developed and selected as the ointment formulation to be prepared; for better compatibility and stability. Ointments were prepared; ointment 30% ethanol extract and soft ointment 30% ethanolic extract fluid. Among both formulations prepared ointment 30% ethanolic extract soft because he got 44% of anti-inflammatory effect in the plantar edema model in rats was chosen. Controls were performed to finished product which met all physical, chemical and microbiological acceptance criteria; 20 CFU / mL of fungi / yeasts and 190 CFU / mL of total aerobic.

**Keywords:** *Senecio nutans*, antiinflammatory, ointment, plantar edema model, semisolid dosage form, control the finished product.

# ÍNDICE

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>I. ANTECEDENTES</b>	<b>3</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	<b>5</b>
2.1 <i>Senecio nutans</i> Schulz Bipontinus	5
2.1.1 Clasificación taxonómica	5
2.1.2 Características de familia y género	6
2.1.3 Descripción de la especie	7
2.2 INFLAMACIÓN	9
• Tipos de inflamación	11
• Edema	24
• Fármacos antiinflamatorios	24
2.3 ASPECTOS DERMATOLÓGICOS	26
2.3.1 La piel	26
2.3.2 Estratos de la piel	27
2.3.3 Transferencia percutánea	28
2.4 ASPECTOS TECNOLÓGICOS	31
2.4.1 Obtención de materia prima	31
2.4.2 Forma farmacéutica tópica	34

<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>42</b>
3.1	MATERIALES	42
3.2	METODOLOGÍA	46
3.2.1	Recolección e identificación de la especie vegetal.	46
3.2.2	Preparación y tratamiento de la especie vegetal.	46
3.2.3	Obtención del extracto etanólico.	46
3.2.4	Identificación de metabolitos secundarios.	47
3.2.5	Determinación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico	55
3.2.6	Elaboración de la forma farmacéutica	57
3.2.7	Evaluación del efecto antiinflamatorio de las pomadas al 30% de extracto etanólico	63
3.2.8	Control del producto terminado	65
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>74</b>
<b>V.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>86</b>
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>93</b>
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>94</b>
<b>VIII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>95</b>
<b>IX.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>102</b>

## INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales son una alternativa en el tratamiento de enfermedades en numerosos pueblos de nuestro territorio, siendo el conocimiento de las propiedades medicinales de dichas plantas parte del patrimonio cultural de estos mismos. [1]

La medicina tradicional peruana es una práctica que data de muchos siglos atrás. Las plantas medicinales constituyen un rico acervo biológico y cultural de nuestro país. La especial ubicación geográfica del Perú hace que posea una de las floras más ricas del mundo, sin embargo pocas se han validado y estandarizado de forma que puedan ofrecerse a la población e incorporarse a los sistemas de salud. [2]

Este conocimiento que ha sido transmitido de generación en generación y que se ha ido formando de la observación y la experimentación continua, llega finalmente a nosotros a través de recopilaciones por parte de estudiosos o mediante la tradición oral. [1]

En los últimos años ha sido creciente la cantidad de publicaciones e investigaciones alrededor de la comprensión de los mecanismos y de las moléculas involucradas en el proceso inflamatorio. Ahora bien, dentro del contexto de los productos naturales antiinflamatorios, la medicina tradicional se ha utilizado para tratar y cuidar a pacientes con enfermedades que conllevan a procesos inflamatorios. En este sentido, la medicina tradicional en la actualidad, es ampliamente usada en el mundo; por ejemplo, en África su uso está por

enciña del 80%, en China alrededor del 40%, mientras que en Asia y América Latina, las poblaciones continúan usando la medicina tradicional, como resultado de circunstancias históricas y creencias culturales.<sup>[3]</sup>

Es importante rescatar el legado de nuestros antepasados e incorporarlo en la elaboración de medicamentos que puedan ser utilizados con mayor difusión y así contribuir en el incremento del conocimiento sobre formulaciones que incorporen extractos provenientes de plantas medicinales. Es por ello que la presente tesis es una investigación que tiene por objetivo general diseñar una forma farmacéutica semisólida a partir del extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans Schulz Bipontinus* "chocra" que conserve la actividad antiinflamatoria. Permitiendo así optimizar el uso de nuestros recursos vegetales para el mejor aprovechamiento terapéutico. <sup>[1][2]</sup>

Los objetivos específicos de este estudio son:

- 1.- Obtener el extracto etanólico de la especie vegetal e identificar los metabolitos secundarios.
- 2.- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico .
- 3.- Elaborar la forma farmacéutica semisólida a partir del extracto etanólico.
- 4.- Evaluar el efecto antiinflamatorio de la forma farmacéutica semisólida.
- 5.- Realizar el control del producto terminado.
- 6.- Comparar el efecto antiinflamatorio del producto terminado con el extracto original.

## I. ANTECEDENTES

El género *Senecio* destaca por sus importantes estudios de actividad biológica y/o farmacológica, como lo demuestran diversos estudios realizados a varias especies pertenecientes a este género. [4]

Los estudios fitoquímicos realizados a la mayoría de estas especies dan cuenta de la presencia de los alcaloides pirrolizidínicos, todo ello debido a la elevada toxicidad de estos alcaloides a nivel hepático según estudios realizados en animales, así como los estudios de hepatotoxicidad en células humanas realizadas con especies como por ejemplo, *Senecio latifolius*.

Así mismo se han realizado estudios de actividad farmacológica a diferentes especies del género *Senecio* como por ejemplo: *Senecio nemorensis*, *Senecio sp.*, *Senecio gibbosus*, *Senecio vulgaris*, *Senecio latifolius*, etc.; los cuales demostraron actividades como analgésica, antiinflamatoria, antimicrobiana, antiespasmódica, entre otras. [5][6][7][8][9][10][11][12][13][14]

La especie *Senecio nutans* Schulz Bipontinus “chocra” ha sido empleada por la medicina tradicional por sus efectos antiespasmódicos, antimicrobianos y antiinflamatorios, los mismos que han sido demostrados por estudios farmacológicos tanto en el género como en la especie. [4]

Existen estudios en los cuales la especie *Senecio nutans* Sch. Bip. presenta actividad antiespasmódica como el realizado por Acuña E.J. (2007) de la

Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, en este estudio utilizan las hojas como muestra vegetal. [15]

Otros estudios son los realizados por Valdez Ortiz (2008) de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno; el cual evalúa la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial del *Senecio graveolens Wedd.* y el estudio de Ochoa Pumaylle *et al.*(2012) de la Universidad Nacional de Trujillo, el cuál realiza la extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens Wedd* (Wiskataya). [16][17]

De entre las investigaciones científicas realizadas, una de ellas evalúa la actividad antiinflamatoria de la especie, fue realizado por Bernaola *et al.* (2009) de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, así mismo en este estudio aislaron dos compuestos denominados; Compuesto FA-53 y Compuesto F-45, correspondiendo a un alcaloide pirrolizidínico y a un benzopirano respectivamente, que a su vez presentaron actividad antiinflamatoria. [4]

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. *Senecio nutans* Schulz Bipontinus

#### 2.1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Según el resultado brindado por el Mg. David Miranda Huamán Botánico con CBP N° 3681 y Catedrático de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” de Ica (ANEXO), a la muestra estudiada le corresponde la siguiente clasificación taxonómica:

<b>REINO:</b>	Plantae
<b>DIVISIÓN:</b>	Magnoliophytas
<b>CLASE:</b>	Magnoliopsidas
<b>ORDEN:</b>	Asterales
<b>FAMILIA:</b>	Asteraceae
<b>GÉNERO:</b>	Senecio
<b>ESPECIE:</b>	<i>Senecio nutans</i> Schulz Bipontinus

Sinónimo: *Senecio graveolens* Wedd. [18]

Nombre Vulgar: “Chocra”, “Chachacoma”, “Chachakuma”, “Wiskataya.” [19]

## **2.1.2. CARACTERÍSTICAS DE FAMILIA Y GÉNERO**

### **2.1.2.1. FAMILIA ASTERACEAE**

Esta familia botánica es cuantitativamente la más importante y grande del reino vegetal, además de ser la más evolucionada desde el punto de vista floral, se le considera la más perfecta debido a los caracteres morfológicos que muestran sus flores. Se calcula en más de 20 000 el número de especies, sin considerar las subespecies, variedades formas y razas. Se encuentra repartida en todas las regiones frías y templadas del mundo, siendo los lugares tropicales los de menor incidencia y densidad, en su mayoría son herbáceas pero pueden encontrarse en formas arbustivas y muy raras especies arbóreas, se adaptan regularmente a lugares muy áridos y húmedos. [1][20]

### **2.1.2.2. GÉNERO SENECCIO**

Dentro de las especies pertenecientes al género mencionamos a *Senecio nemorensis*, *Senecio aegyptius* var. *discoideus*, ambos con sus sesquiterpenos (sesquiterpenos tipo eremophilano) con acción antimicrobiana; *Senecio leucanthemifolius* Poiret con estudios de actividad hipoglicemiante in vitro y actividad antimicrobiana; *Senecio* sp. *Senecio gibbosus*, *Senecio vulgaris* y *Senecio inaequidens* todos ellos con actividades antioxidantes, antidiabéticas y citotóxicas; *Senecio samnitum* Huet; *Senecio inaequidens* y *Senecio vulgaris* L. con sus propiedades antimicrobianas, antifúngicas y citotóxicas; *Senecio* sp (tres lactonas sesquiterpénicas) con actividad antiviral in vitro frente al virus de la hepatitis B; y por último estudios in vitro de los efectos antiproliferativos de

tumores humanos de líneas celulares de extracto de *Senecio leucanthemifolius* *Poiret*. Son solo algunos reportes científicos de actividades biológicas y/o farmacológicas de diversas especies de este género.  
[4][5][6][7][8][9][10][11][12][13][14][21][22][23][24][25][26][27][28][29][30][31][32]

### **2.1.3. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE**

*Senecio nutans* *Schulz Bipontinus* conocido comúnmente como “chocra” es un arbusto de 20-50 cm de altura que crece en forma silvestre, entre 3500-4800 m.s.n.m. Presenta tallo glabro, resinoso, fragante, densamente ramoso; cubierto de hojas hasta el ápice. Hojas oblongo-lineares, alternas, sésiles, margen dentado y revoluto, de 3-12 mm de longitud, por 2-7 mm de ancho. Inflorescencia en capítulos discoideos, terminales; involucreo acampanado, de 6-7,5 mm de longitud por 5-6 mm de diámetro; 8-10 brácteas involucrales y mancha negra en el dorso. Flores isomorfas, tubulosas, amarillo-rojizas. Fruto: un aquenio cilíndrico, glabro o papiloso. (*Fig. N° 01*)

#### **Distribución**

En el Perú crece en Ancash, Arequipa, Cerro de Pasco, Lima, Ayacucho, Huancavelica, y en otros países como en Chile (Antofagasta), Bolivia (Potosí) y Argentina (Catamarca).

\_Rango altitudinal: Entre los 3500- 5000 m.s.n.m. (sierra central peruana).

\_Temperatura: observada en zonas con heladas eventuales y con temperatura media anual de 2-19 °C.

\_Requerimientos de suelos y agua: Se trata de una planta muy rústica y con alta tolerancia a suelos pobres y difíciles, tolera muy bien la alta pedregosidad y las carencias estacionales de agua.



*Figura N° 01: Senecio nutans Schulz Bipontinus*

### **Uso tradicional**

En infusión; se emplea popularmente para el alivio de los malestares propios del soroche, cólicos estomacales y afecciones bronquiales. El cocimiento de hojas y tallos para dolores musculares y articulares. [4][19]

## 2.2. INFLAMACIÓN

Es una de las respuestas fisiopatológicas fundamentales con las que el organismo se defiende frente a agresiones producidas por gran variedad de estímulos, aunque en ocasiones, su exageración y persistencia no parezca que sirva a tal propósito. [33] La inflamación puede ser originada por factores endógenos (necrosis tisular o rotura ósea) o factores exógenos como lesiones por agentes mecánicos (corte, etc.), físicos (quemaduras), químicos (corrosivos), biológicos (microorganismos) e inmunológicos (reacciones de hipersensibilidad). Como por ejemplo: cuando se produce una rotura de la piel o de las mucosas, los microorganismos pueden pasar del medio externo al interno, como reacción y en un intento de localizar al agente invasor, se produce una reacción en el tejido conectivo vascularizado dando lugar a la inflamación, donde se produce el acumulo de fluidos y leucocitos en el espacio extravascular. En algunos casos, como la hipersensibilidad, la inflamación puede tener consecuencias nocivas, por lo general es una respuesta protectora que trata de restaurar los tejidos lesionados. Tras un proceso inflamatorio puede ocurrir lo siguiente:

- Resolución con retorno a una estructura y función normales.
- Supuración con formación de absceso.
- Hinchazón con regeneración de tejido especializado o fibroso formando una cicatriz.
- Persistencia del agente causante, haciéndose el proceso crónico.

La respuesta inflamatoria está formada por plasma, células circulantes, vasos sanguíneos y constituyentes celulares y extracelulares del tejido conectivo. Entre las células circulantes se incluyen los neutrófilos, monocitos, eosinófilos, linfocitos, basófilos y plaquetas. Las células del tejido conectivo son los mastocitos, que rodean los vasos sanguíneos y los fibroblastos. La matriz extracelular consiste en proteínas fibrosas estructurales (colágeno, elastina), glicoproteínas adherentes (fibronectina, laminina, entactina, tenscina y otras) y proteoglicanos. La membrana basal es un componente especializado de la matriz extracelular que consiste en glicoproteínas adhesivas y proteoglicanos.

El número de células tisulares (células endoteliales, mastocitos y macrófagos), sanguíneas (leucocitos y plaquetas), y de mediadores químicos (factor C5a del complemento, factor activador de plaquetas, eicosanoides, citosinas, factores de crecimiento, histamina y bradicinina) que intervienen en los procesos inflamatorios es muy amplio y variable, siendo asimismo diferente su participación en cada proceso. Aunque en muchas ocasiones la inflamación es autolimitada por el curso temporal del proceso que la desencadenó, en otras, especialmente frente a agresiones autoinmunes, la vasodilatación, la quimiotaxis y la liberación de mediadores generan procesos en cascada que facilitan su cronificación.

Los cuatro signos cardinales de la inflamación fueron descritos por Paracelso (30 AC al 38 DC) y son:

- Rubor (coloración roja)
- Tumor (hinchazón)
- Calor
- Dolor

## **TIPOS DE INFLAMACIÓN**

La inflamación según su duración se divide en aguda y crónica. La aguda es de duración relativamente corta (minutos, horas o unos pocos días), se inicia muy rápidamente y se caracteriza por el exudado de fluidos plasmáticos y la migración de leucocitos predominantemente neutrófilos. La inflamación crónica dura semanas, meses o incluso años y se caracteriza histológicamente por el infiltrado de linfocitos y macrófagos con la proliferación de vasos sanguíneos y tejido conectivo.

### **a) Inflamación aguda**

Los cambios que se producen tras la lesión tisular se deben a tres procesos:

1. Cambios en el flujo y calibre vascular, que hacen que aumente el flujo sanguíneo.
2. Cambios estructurales en los vasos sanguíneos que aumentan la permeabilidad vascular e inducen la formación de exudado inflamatorio.
3. Paso de los leucocitos del espacio vascular al extravascular alcanzando así el foco de las lesiones.

El resultado de todo ello es el acúmulo de un fluido rico en proteínas, fibrina y leucocitos.

En los primeros 10-15 minutos se produce una hiperemia por dilatación de arteriolas y vénulas y apertura de los vasos de pequeño calibre. Tras esta fase aumenta la viscosidad de la sangre, lo que reduce la velocidad del flujo sanguíneos. Al disminuir la presión hidrostática en los capilares, la presión osmótica del plasma aumenta, y en consecuencia un líquido rico en proteínas sale de los vasos sanguíneos originando el exudado inflamatorio.

### **b) Inflamación crónica**

Si la inflamación dura semanas o meses se considera crónica, y tiene dos características importantes:

1. El infiltrado celular está compuesto sobre todo por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.
2. La reacción inflamatoria es más productiva que exudativa, es decir, que la formación de tejido fibroso prevalece sobre el exudado de líquidos.

La inflamación crónica puede producirse por diversas causas: a) progresión de una inflamación aguda; b) episodios recurrentes de inflamación aguda y c) inflamación crónica desde el comienzo asociada frecuentemente a infecciones intracelulares (tuberculosis, lepra, etc.).

Microscópicamente la inflamación crónica se caracteriza por la presencia de macrófagos y sus derivados (células epitelioides y gigantes), linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos, eosinófilos y fibroblastos.

### **c) Inflamación crónica granulomatosa**

Algunas formas de inflamación crónica tienen una histología peculiar que consiste en el acumulo de macrófagos modificados llamados epitelioides formando unos agregados nodulares llamados granulomas. Las células epitelioides reciben ese nombre porque se asemejan a las células epiteliales. Tienen un núcleo vesicular y abundante citoplasma eosinófilo y segregan la enzima convertidora de angiotensina (Kininasa II), la fosfatasa ácida y mucopolisacáridos. Además, los macrófagos pueden fusionarse por efecto del IFN-g y formar células gigantes que contienen hasta 100 núcleos.

## **MECANISMOS QUE INTERVIENEN EN LA INFLAMACIÓN**

### **➤ MIGRACIÓN LEUCOCITARIA**

Inicialmente, en la inflamación aguda se acumulan predominantemente los leucocitos; neutrófilos polimorfonucleares y en las fases tardías, los monocitos y macrófagos. Hay tres fases para el reclutamiento de las células en la región dañada, es decir, la extravasación o salida de las células desde la luz del vaso al espacio intersticial.

Normalmente las células ocupan la parte central del torrente sanguíneo teniendo muy poco contacto con el endotelio. Al aumentar la permeabilidad vascular, el flujo sanguíneo se vuelve lento, lo que permite a los leucocitos acercarse al endotelio vascular. Este proceso se denomina marginación y se debe a los cambios hemodinámicos producidos en la inflamación.

Los leucocitos escapan del torrente circulatorio mediante un movimiento ameboide activo. Cuando los leucocitos entran en contacto con la célula endotelial, proyectan pseudópodos y migran por la superficie hasta que detectan una unión celular inter-endotelial. Durante su paso desde la luz vascular al tejido extravascular, el leucocito rompe las uniones inter-endoteliales y la membrana basal probablemente a través de la secreción de colagenasa.

El tipo de leucocito que migra depende mucho del tiempo que dura la inflamación y del tipo de estímulo. En la mayoría de los casos, en la inflamación aguda, los neutrófilos son las células predominantes durante las primeras 24 horas. Estas células empiezan a acumularse en los primeros minutos tras la lesión, mientras que los monocitos y macrófagos se acumulan más tarde, tras 24 horas. Después de la extravasación, los leucocitos migran en los tejidos a los lugares donde se ha producido la lesión mediante el proceso de quimiotaxis.

### ➤ **CÉLULAS QUE INTERVIENEN EN LA INFLAMACIÓN**

En la inflamación intervienen multitud de células pero entre ellas destacan los granulocitos los neutrófilos y fagocitos mononucleares. La vida de los neutrófilos es muy corta, solo 3 a 4 días. Algunos de los productos de los gránulos son bactericidas, mientras que otros son capaces de degradar la matriz proteica extracelular. Muchos de los neutrófilos mueren en los lugares de inflamación liberando las enzimas que pueden dañar las células o las proteínas de la matriz extracelular.

Los fagocitos mononucleares se diferencian en prácticamente todos los tejidos del organismo de distinta manera según el tejido que ocupan, dando lugar a macrófagos. Los macrófagos tienen una producción autocrina de factores de crecimiento tales como el GM-CSF o el M-CSF que hacen que proliferen localmente en los tejidos. Para llevar a cabo sus funciones los macrófagos necesitan ser activados por el IFN- $\gamma$ .

### ➤ **MOLÉCULAS QUE INTERVIENEN EN LA INFLAMACIÓN**

Además de las células directamente implicadas en la inflamación, como son los neutrófilos, macrófagos, y linfocitos, basófilos, mastocitos, plaquetas y células endoteliales también producen mediadores químicos. Hay dos tipos, los mediadores tisulares y los mediadores plasmáticos de la inflamación. [34]

### ➤ **MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN:**

Son mediadores endógenos presentes en diversos tejidos cuyo blanco está muy cerca del sitio de su liberación (incluso en la misma célula liberadora); muchas de ellas son producidas por el organismo en respuesta a cambios o agresiones localizadas. Se liberan en respuesta a diversos estímulos fisiológicos y fisiopatológicos. [35]

#### **i. Histamina**

Amina biógena que participa, juntos con otros mediadores, en el shock anafiláctico y en muchos fenómenos de hipersensibilidad.

- **Síntesis, almacenamiento y liberación**

Se almacena fundamentalmente en mastocitos, basófilos, histaminocitos del estómago y en neuronas. Se sintetiza por descarboxilación de la histidina. Se libera por excitosis durante las reacciones inflamatorias o alérgicas. También por fármacos, como morfina o tubocurarina, y por estrés físico.

- **Receptores de histamina**

H1, H2, H3 y H4, los agonistas de H2 se utilizan en clínica.

- **Efectos fisio-farmacológicos**

**Sistema cardiovascular:** Vasodilatación (H1, H2), aumento de la permeabilidad capilar (H1) (“triple respuesta de Lewis”), aumento de la frecuencia, la fuerza de contracción y el gasto cardíaco (H2).

**Terminaciones sensitivas.** Prurito (H1).

**Músculo liso.** Contracción del musculo liso del fleon, bronquio y útero (H1).

**Glándulas:** Estimula la secreción de ácido gástrico (H2) y las secreciones nasales y bronquiales (H1).

**Sistema nervioso central** (H1, H2, H3, H4).

- ii. **Eicosanoides**

Están implicados en la regulación de muchos procesos fisiológicos y se encuentran entre los mediadores y moduladores de la inflamación más importantes.

## ○ **Síntesis**

Todos derivan del ácido araquidónico (AA), que se encuentra esterificado en los fosfolípidos de membrana. Los estímulos que liberan AA incluyen la lesión celular y trombina en plaquetas, el C5a en neutrófilos, bradicininas en fibroblastos y reacciones antígenos-anticuerpo en los mastocitos.

El AA se metaboliza por ciclooxigenasa (COX) dando lugar a prostaglandinas y tromboxanos (prostanoides), y por lipooxigenasa ocasionando leucotrienos, lipoxinas y otros. La COX1 se encuentra constitutivamente en las células; los prostanoides que produce están implicados en la homeostasis celular normal. La COX2 es inducida en las células inflamatorias por estímulos inflamatorios.

Los principales prostanoides son: PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>, TXA<sub>2</sub>. Los leucotrienos principales, LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub> y LF<sub>4</sub>. (*Fig. N°02*)

Los glucocorticoides ejercen su efecto antiinflamatorio por la inhibición de la inducción de la COX2. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) inhiben la COX1 y la COX2. Los nuevos fármacos antiinflamatorios inhiben específicamente la COX2, lipooxigenasa o los receptores de prostanoides o leucotrienos.

## ○ **Receptores para prostanoides**

(Prostanoides que lo activan) DP (PGD<sub>2</sub>); FP (PGF<sub>2</sub>); IP (PGI<sub>2</sub>); TP (TXA<sub>2</sub>/PGH<sub>2</sub>), EP1, EP2 Y EP3 (PGE<sub>2</sub>).

○ **Acciones de los prostanoïdes**

**PGD2:** Vasodilataci3n, relajaci3n del m3sculo gastrointestinal y relajaci3n uterina.

**PGF2 $\alpha$ :** Contracci3n uterina, lute3lisis, broncoconstricci3n.

**PGI2:** Vasodilataci3n e inhibici3n de la agregaci3n plaquetaria, liberaci3n de renina.

**TXA2:** Vasoconstricci3n y agregaci3n plaquetaria.

**PGE2:** Contracci3n del musculo liso intestinal y bronquial (EP1); vasodilataci3n y relajaci3n del musculo liso, intestinal y bronquial (EP2); y contracci3n del musculo intestinal, inhibici3n de las secreci3n del 3cido g3strico, aumento de la secreci3n del moco g3strico, inhibici3n de la lip3lisis y estimulaci3n de la contracci3n uterina (EP3).

La respuesta inflamatoria incluye liberaci3n de prostanoïdes, PGE2, PGI2 y PGD2 que, junto con otros mediadores vasodilatadores como la histamina y bradicinina contribuyen al enrojecimiento y el aumento del flujo sanguïneo en las zonas de inflamaci3n aguda. Potencian el efecto hiperalg3sico de bradicininas.

Media el aumento de temperatura corporal que producen citosinas end3genas.

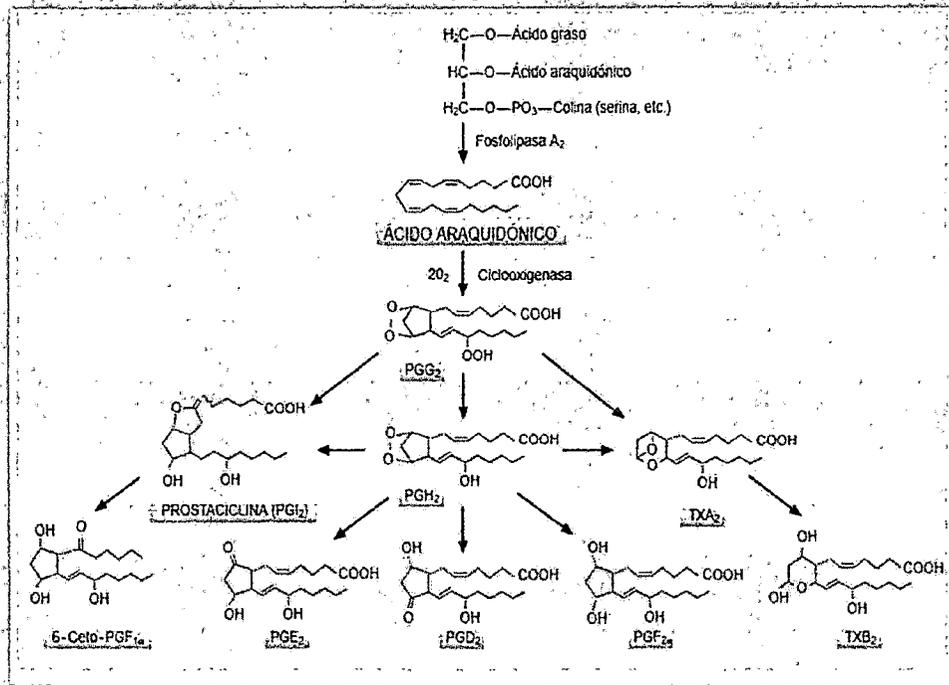
○ **Acciones de los leucotrienos**

**El LTB<sub>4</sub>**, es un quimiotáctico de neutrófilos y macrófagos. Aumenta la producción de productos oxidados. Sobre macrófagos y linfocitos estimula la liberación de citosinas.

**LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub> y LTF<sub>4</sub>** son broncoconstrictores potentes y aumentan la secreción de moco. Se encuentran en el esputo de pacientes con bronquitis crónica.

Contribuyen a la hiperactividad bronquial de los asmáticos. Algunos antagonistas de los receptores para leucotrienos (p.e. ***zafirlukast*** ) son útiles para el tratamiento del asma.

**El LTB<sub>4</sub>** se encuentra en los exudados inflamatorios y está implicado en enfermedades como artritis reumatoide, psoriasis y colitis ulcerosa.



*Fig. N°02 Biosíntesis de los derivados del ácido araquidónico producidos por ciclooxigenación.*

### iii. Factor activador de plaquetas (FAP)

Mediador importante en la alergia (aguda y crónica) y en estados inflamatorios.

Se produce y libera en la mayoría de células inflamatorias al ser estimuladas.

Se sintetiza a partir del acil-FAP por medio de la fosfolipasa A<sub>2</sub> y una acetiltransferasa.

#### ○ Acciones y papel en la inflamación

Por inyección local produce vasodilatación, eritema, aumento de la permeabilidad vascular, edema, e hiperalgesia. Es quimiotáctico de neutrófilos y eosinófilos a nivel bronquial en la fase final del asma.

Es espasmógeno del músculo liso bronquial e intestinal, debido en parte, a la activación de fosfolipasa A2, que produce leucotrienos.

En plaquetas participa en la producción de tromboxano.

Las acciones antiinflamatorias de los glucocorticoides se explican en parte por la inhibición de las síntesis de FAP. Los antagonistas competitivos de los receptores del FAP pueden ser útiles en el tratamiento del asma.

#### iv. **Bradicinina (BK)**

Péptido vasoactivo formado por la acción de la calicreína sobre el cininógeno. Es inactivada por la cininasa II (enzima convertidora de angiotensina).

##### ○ **Acciones y papel en la inflamación**

Produce muchos de los fenómenos observados en la reacción inflamatoria: dolor, vasodilatación (por liberación de PGI2 y NO), aumento de la permeabilidad vascular y espasmo del músculo liso.

Es uno de los mediadores implicados en la diarrea, estimulación de las secreciones nasofaríngeas en la rinitis alérgica y pancreatitis.

##### ○ **Receptores para BK**

Receptores B1, implicados en la hiperalgesia inflamatoria persistente.

Receptores B2, implicados en la mayoría de las acciones de BK. Los antagonistas de los receptores B2 (p.e. *icatibant*), se han mostrado útiles en el tratamiento del síndrome carcinoide, algunas alteraciones gastrointestinales y la pancreatitis aguda. [4]

## v. Óxido nítrico

Se sintetiza por tres isoformas de NO sintasa, dos constitutivas y una inducible (**i NOS**), implicada en las reacciones inflamatorias. Todas las células inflamatorias expresan iNOS en respuesta a citosinas. También se expresa en el epitelio bronquial de asmáticos y en la mucosa del colon de pacientes con colitis ulcerosa.

### ○ **Acciones y papel en la inflamación**

Potente vasodilatador, aumenta la permeabilidad vascular y la producción de PG inflamatorias. Sin embargo, tiene acciones antiinflamatorias; liberado en células endoteliales inhibe la adhesión de neutrófilos y plaquetas así como la agregación plaquetaria.

Aumenta los mecanismos locales de defensa, pero producido en exceso es citotóxico. [36]

Los pacientes con shock séptico mejoran con inhibidores específicos de la iNOS.

## vi. Citocinas

Péptidos liberados en el tejido inflamado y en células del sistema inmune. Existen más de cincuenta e incluyen interleucinas, quimiocinas, factores de crecimiento, interferones, factores de necrosis tumoral como el TNF- $\infty$ , etc. Las producen macrófagos, linfocitos, células endoteliales y fibroblastos. La mayoría no son constitutivas, se sintetizan por la activación celular.

Además de las acciones directas sobre las células pueden inducir la formación de otras citocinas o los receptores de otras citocinas.

Están implicadas tanto en la fase de inducción de la respuesta inmune como en la fase efectora. Existen citosinas proinflamatorias (IL - 1 y TNF -  $\infty$ ) y antiinflamatorias (TGF -  $\beta$ , la IL - 4, la IL - 10 y la IL - 13), que pueden inhibir la producción de quimiocinas.

La interleucina 1 (IL - 1) está implicada en la patogénesis de la artritis reumatoide, la enfermedad inflamatoria intestinal, el shock séptico y algunas enfermedades autoinmunes.

Los interferones son sintetizados en respuesta a un estímulo vírico o por otras citocinas.

Existen tres tipos, INF-  $\alpha$ , INF-  $\beta$ , y INF-  $\gamma$ . Asu vez el INF- $\alpha$  es una familia de 15 proteínas. Todos tienen actividad antivírica, antitumoral y producen fiebre. Se utilizan en la terapia del cáncer, la forma recidivante-remitente de la esclerosis múltiple (INF-  $\beta$ ), en infecciones víricas y, en ensayo, en el tratamiento de la hepatitis, leishmaniosis y lepra. [4][33]

## **EDEMA**

Constituye un aumento neto o exceso del líquido extravascular, ya sea, en el tejido intersticial o en cavidades serosas, donde este fluido puede ser un exudado o trasudado. Ocurre como consecuencia del aumento de la permeabilidad vascular, que ocasiona salida de fluido rico en proteínas hacia el intersticio con aumento de la presión osmótica a la que se agrega un incremento de presión hidrostática secundaria a vasodilatación y aumento de líquido intersticial. [4][33][37]

## **FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS**

Fármacos analgésicos que poseen actividad antitérmica y en su mayoría antiinflamatoria, con frecuencia se los denomina por su acrónimo (AINEs: Antiinflamatorios No Esteroideos) para diferenciarlos de los glucocorticoides con actividad antiinflamatoria. Los AINEs comparten las tres acciones que lo definen (analgésica, antitérmica y antiinflamatoria), su eficacia relativa para cada una de ellas puede ser diferente, es decir, un fármaco concreto puede mostrar mayor actividad antiinflamatoria o analgésica que otro.

Los principales efectos terapéuticos y muchas de las reacciones adversas de los AINEs pueden explicarse por su efecto inhibitor de la actividad de las ciclooxigenasas, enzimas que convierten el ácido araquidónico que se encuentra en las membranas celulares en endoperóxidos cíclicos inestables, los cuales se transforman en prostaglandinas (PG) y tromboxanos. Algunos de estos eicosanoides participan, en grado diverso, en los mecanismos patógenos de la

inflamación, el dolor y la fiebre, por lo que la inhibición de su síntesis por los AINE sería responsable de su actividad terapéutica, aunque, dada su participación en determinados procesos fisiológicos, dicha inhibición sería también responsable de diversas reacciones adversas características de estos fármacos. Es preciso destacar que los eicosanoides son solo una parte de los mediadores celulares involucrados en la modulación de una determinada función o proceso patológico y que los AINE no inhiben el conjunto de la cascada biosintética que tiene su origen en el ácido araquidónico (p. ej., no afectan la actividad enzimática de las lipoxigenasas que originan leucotrienos). Se comprende así la limitación que poseen estos fármacos en el control de procesos caracterizados por la intervención de numerosos mediadores. El descubrimiento de la existencia de, al menos, dos isoformas de la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), con localizaciones y funciones diferentes, ha abierto nuevas perspectivas terapéuticas mediante el diseño de AINE que afecten selectivamente una u otra isoforma. La COX-1 tiene características de enzima constitutiva, y su actividad tiene que ver con la participación de las PG y tromboxanos en el control de funciones fisiológicas. En cambio, la COX-2 tiene características de enzima inducible, en determinadas células, bajo circunstancias patológicas (p. ej., en macrófagos, monocitos, células endoteliales y sinoviales en el curso de un proceso inflamatorio) por el concurso de diversas citocinas y mediadores de la inflamación. [4][33]

Los AINE, tienen su principal aplicación clínica como antiinflamatorios en el tratamiento de los trastornos musculoesqueléticos, como artritis reumatoide y

artrosis. En general, los AINE proporcionan sobre todo alivio sintomático del dolor y la inflamación que acompañan a las enfermedades y no se considera que sean fármacos antirreumáticos y modificadores de la enfermedad. Diversos AINE están aprobados para el tratamiento de la espondilitis anquilosante y la gota. El empleo de los AINE en las artropatías leves, junto con el reposo en cama y la fisioterapia, por lo general es eficaz. Cuando los síntomas tienen que ver solo con problemas de sueño a causa del dolor o la rigidez matutina importante, una sola dosis de AINE administrada por la noche puede ser suficiente. Algunos pacientes que tienen una enfermedad más debilitante no responden en forma adecuada a las dosis terapéuticas completas de los AINE y necesitan un tratamiento intensivo con fármacos de segunda opción. Se han observado diferencias interindividuales e intraindividuales considerables en la respuesta clínica. [37]

## **2.3. ASPECTOS DERMATOLÓGICOS**

### **2.3.1. LA PIEL**

Es considerado uno de los órganos más grandes del cuerpo, ya que en efecto la piel del adulto común tiene una superficie de unos 2m<sup>2</sup>. Es probable que sea el órgano más pesado del organismo.

Su accesibilidad y la oportunidad que ofrece para mantener aplicados preparados intactos largo tiempo, han hecho que se le use cada vez más como vía para administrar droga sea por sus efectos locales o sistémicos. [11][16]

La piel tiene muchas funciones esenciales, entre ellas; protección, termorregulación, capacidad de respuesta inmunitaria, síntesis bioquímica y detección sensitiva. El tratamiento por vía tópica es un método terapéutico conveniente, pero su eficacia depende de la comprensión de la función de la barrera de la piel, de modo primario dentro del estrato corneo. [37]

### **2.3.2. ESTRATOS DE LA PIEL**

Anatómicamente se puede describir la piel como un órgano estratificado que presenta tres estratos texturales bien distintos, la epidermis, la dermis y la grasa subcutánea o hipodermis.

#### **La Epidermis:**

Es la capa más externa de la piel constituida en forma casi exclusiva por células epiteliales pavimentosas estratificadas.

Los restos queratinizados y aplanados de estas células epidérmicas en división activa se acumulan en la superficie de la piel como una región relativamente fina (unas 10  $\mu\text{m}$  de espesor) que se llama estrato corneo o capa cornea.

El estrato corneo también es muy giroscópico, funciona como una barrera física y química y es poco permeable al agua, retarda la pérdida de agua desde los

tejidos subyacentes, reduce la penetración de los rayos ultravioletas y limita la entrada de microorganismos, medicaciones y sustancias tóxicas del exterior.

### **La Dermis:**

Se encuentra debajo de la epidermis y está formada por dos capas de tejido conectivo que se fusionan. Esta sostiene a la epidermis e interacciona con ella, facilitando su adaptación a los músculos y vasos subyacentes. En la dermis hay vasos linfáticos, sanguíneos y nerviosos, aunque solo llegan fibras nerviosas más allá de las papilas dérmicas hasta la región germinativa de la epidermis.

### **La Hipodermis o Grasa subcutánea:**

Ubicado debajo de la dermis, viene a ser la capa adiposa subcutánea que sirve de almohadilla a la dermis y epidermis.

Las fibras colágenas de la dermis están situadas en las células adiposas. Su presencia es un importante factor de protección contra traumatismos y pérdida de calor.

### **2.3.3. TRANSFERENCIA PERCUTÁNEA Y FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE ÉSTA**

Las drogas se aplican en la piel para obtener uno o más de los cuatro efectos generales siguientes; un efecto sobre la superficie de la piel, un efecto dentro del estrato corneo, un efecto más profundo que requiere penetración en la epidermis y un efecto sistémico.

## **Factores que influyen sobre la transferencia percutánea**

Existe una serie de factores que influyen sobre la transferencia a través de la barrera epidérmica. Se les puede catalogar en dos grandes grupos: factores biológicos y fisicoquímicos; los primeros son inherentes a la piel en tanto que los segundos son al fármaco y a su vehículo. [38]

### **\_ Estado de la piel:**

Si la epidermis no se halla intacta su cualidad barrera queda alterada de manera profunda, puede tratarse de un trauma físico, accidental o experimental, o bien una enfermedad cutánea, o agresión en estos casos el espesor de la capa cornea disminuye en forma más o menos y con ello su capacidad oclusiva de retención hídrica y de defensa.

La permeabilidad se incrementa por trauma químico que pueda lesionar o destruir los queratinocitos. [39]

### **\_ Topografía de la zona de aplicación:**

Los experimentos de permeabilidad revelan que el estrato corneo hidratado tiene afinidad por los compuestos lipófilos e hidrófilos, si bien es cierto que diferentes personas normales tienen diferente permeabilidad a los fármacos aplicados en los mismos sitios, tales diferencias en la permeabilidad deben adjudicarse a los distintos espesores del estrato corneo y zonas topográficas.

La penetración de fármacos es más alta en la cara, en áreas intertriginosas y, especialmente en el perineo. [37]

Debemos tener presente que la absorción percutánea en animales, sea en vivo o en vitro, sólo puede ser útil como una aproximación de la actividad en el ser

humano. Siempre hay que tener en cuenta la influencia de las variaciones entre las especies, la variabilidad del sitio (de la cual se sabe poco en animales) y el estado de la piel, variables experimentales y en particular el vehículo. [39]

#### **\_ Grado de hidratación:**

Para una buena transferencia es de gran importancia un grado óptimo de hidratación del estrato córneo, la absorción de medicamentos aumenta mediante la inhibición de la pérdida transdérmica de agua, los métodos de hidratación incluyen oclusión con una película impermeable mediante la aplicación de vehículos oclusivos lipófilos como pomadas. Los excipientes con hidrocarburos y aceites son los más oclusivos y los que producen una mayor hidratación. [37]

#### **\_ Factores biológicos:**

De menor importancia son las variaciones tanto de temperatura, humedad y ambiental. Un descenso térmico produce un enfriamiento superficial y la permeabilidad teóricamente debe descender.

Por lo general las formas tópicas se aplican por frotamiento o por inunción (masaje suave) que neutraliza la isquemia criogénica, promoviendo un flujo local de sangre e incrementando así la temperatura.

En ocasiones se tendrá presente también que la edad de la piel importa en la consideración de estos argumentos.

#### **\_ Concentración del fármaco:**

Entre los factores fisicoquímicos que intervienen en la transferencia percutánea tiene mucha importancia la concentración del fármaco en el sistema elegido

para su transporte (forma posológica). Un incremento en la cantidad de fármaco presente en el sistema por lo general se refleja en una mayor cantidad absorbida. [38]

## **2.4. ASPECTOS TECNOLÓGICOS**

### **2.4.1. OBTENCIÓN DE MATERIA PRIMA**

Para obtener las sustancias contenidas en las plantas y transformarlas en medicamentos existen dos procedimientos fundamentales: procedimiento por expresión y el procedimiento de extracción.

El procedimiento de expresión es utilizado para la obtención de jugos y zumos, y emplea como materia prima plantas frescas troceadas.

El procedimiento de extracción utiliza también plantas troceadas o materiales vegetales desecados que son tratados con un líquido extractivo. Como líquidos extractivos se utilizan casi siempre mezclas de etanol y agua.

En el proceso de extracción se distinguen dos fases fundamentales:

*\_Fase de lavado*, las sustancias activas pasan casi instantáneamente al disolvente, ya que las células liberadas por el proceso de trituración, y en cierta proporción destruidas, entran en contacto directo con el disolvente.

*\_Fase de extracción*, para disolver los componentes de las células intactas, el disolvente tiene que penetrar primero en ellas. Las membranas celulares arrugadas y secas existentes en la droga deben pasar en primer lugar a un

estado de esponjamiento, que permita el paso del disolvente al interior de las células. Estos fenómenos son favorecidos en gran medida por el agua. Las mezclas hidroalcohólicas, como las utilizadas preferentemente para la fabricación de preparados farmacéuticos, también se muestran especialmente ventajosas en este sentido.

Luego las sustancias endocelulares pasan al líquido extractivo por difusión a través de la membrana hasta alcanzar el equilibrio de concentración entre las soluciones situadas al interior y al exterior de la célula. [1]

- **Extractos secos.-** Son preparados pulverulentos, que se preparan de extractos de drogas por evaporación del líquido del extracto.
- **Extractos fluidos.-** Son preparados líquidos que se obtienen en la extracción de droga. Como líquido de extracción pueden utilizarse mezclas etanol-agua, que pueden tener determinados aditivos. Son preparaciones líquidas tal que 1 parte por masa o volumen es equivalente a 1 parte por masa o droga vegetal.
- **Extractos blandos.-** Son preparados altamente viscosos que se obtienen de extractos de drogas por evaporación de líquido de extracción. [40]

#### a) **Maceración**

Este procedimiento requiere que la droga triturada sea incorporada al líquido de extracción. Así mismo, el conjunto debe ser protegido de la luz solar directa y agitado repetidamente. El tiempo de maceración es variable pudiendo estar entre 4 a 10 días, pero con unos 5 días suelen ser suficientes. La agitación es

importante en el proceso para favorecer la difusión de las sustancias endocelulares, y por ello es recomendable agitar el conjunto 3 veces al día aproximadamente.

Cuanto mayor es la relación entre el líquido extractivo y la droga, será más favorable el rendimiento. Después de la maceración se filtra el conjunto exprimiendo el residuo. También es recomendable lavar el residuo con el agente extractivo para recuperar las sustancias extractivas retenidas. Se reúnen todos los líquidos extractivos para ser filtrado y decantado.

#### **b) Dimaceración**

En este procedimiento la droga se macera dos veces con el mismo disolvente, la primera vez con la mitad y después con la otra parte. Con este procedimiento se mejora ligeramente el rendimiento. Sin embargo, es más recomendable utilizar primero una pequeña proporción del disolvente (20%) y luego el resto.

#### **c) Maceración con agitación**

En este procedimiento se agita intensamente el material en maceración con un agitador magnético, de esta forma no se mejora el resultado de la extracción pero en cambio se reduce el tiempo requerido para alcanzar el equilibrio de concentraciones, acortando el tiempo total de extracción.<sup>[1]</sup>

## **2.4.2. FORMA FARMACÉUTICA TÓPICA**

Sobre la piel se aplican, ya sea con fines terapéuticos o cosméticos, numerosas formulaciones de diversa naturaleza fisicoquímica.

*Las formas de consistencia semisólida constituyen, sin embargo, el grupo más amplio dentro de las formulaciones de aplicación sobre la piel y diversas mucosas.*

Las características y propiedades de los sistemas semisólidos pueden considerarse específicas de las preparaciones de aplicación tópica. Satisfacen una exigencia de las preparaciones de aplicación tópica, ya que, en general, poseen buena adherencia lo que hace que permanezcan sobre la superficie de aplicación por un tiempo razonable hasta que se eliminan por lavado. Sus propiedades se deben a su comportamiento reológico de tipo plástico, según el cual los semisólidos mantienen su forma y se adhieren como una película, pero cuando se aplica una fuerza externa sobre ellos se deforman con facilidad y fluyen (capacidad de extensión).

### **POMADAS**

#### **A) Definición y características generales**

Las pomadas constituyen un grupo de preparados farmacéuticos muy heterogéneo, caracterizados por su consistencia semisólida. Están destinadas a ser aplicadas sobre la piel o sobre ciertas mucosas con el fin de ejercer una acción local o de dar lugar a la penetración cutánea de los medicamentos que contienen.

Consta de un *excipiente*, sencillo o complejo, en cuyo seno se disuelven o se dispersan los *principios activos*.

Todos los preparados de consistencia semisólida están, de hecho, englobados en la definición genérica “pomadas”, pero a menudo se utilizan otras denominaciones más específicas, relacionadas con sus características fisicoquímicas y su consistencia más o menos blanda. Así, en la Farmacopea Europea se distinguen varias categorías de pomadas:

– **Pomadas** propiamente dichas. Constan de un excipiente de una sola fase en el que se pueden dispersar sólidos o líquidos.

- **Hidrófobas (lipófilas)**. No pueden absorber más que pequeñas cantidades de agua. Las sustancias que se emplean con más frecuencia en su formulación son la vaselina, la parafina, la parafina líquida, los aceites vegetales, las grasas animales, los glicéridos sintéticos, las ceras y los polialquilsiloxanos líquidos.
- **Absorbentes de agua**. Pueden absorber grandes cantidades de este líquido. Sus excipientes son los de las pomadas hidrófobas a los cuales se incorporan emulgentes de tipo W/O, como la lanolina, los alcoholes de grasa lana, los ésteres del sorbitano, los monoglicéridos y los alcoholes grasos.
- **Hidrófilas**. Se elaboran con excipientes miscibles en agua, tales como los polietilenglicoles líquidos y sólidos (macrogoles). Pueden contener cantidades adecuadas de agua.

– **Crema**s. 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.
- *Hidrófilas.* La fase externa es de naturaleza acuosa debido a la presencia en su composición de emulgentes de tipo O/W, tales como jabones sódicos o de trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados y polisorbatos, a veces combinados en proporciones convenientes con emulgentes tipo W/O.

**\_Geles.** Estas preparaciones están formadas por líquidos gelificados con ayuda de agentes apropiados.

- *Hidrófobos (oleogeles).* Están constituidos por excipientes como la parafina líquida adicionada de polietileno, aceites grasos gelificados con sílice coloidal o por jabones de aluminio o zinc.
- *Hidrófilos (hidrogeles).* Se elaboran con excipientes hidrófilos como el agua, el glicerol y los propilenglicoles, gelificados con sustancias como goma de tragacanto, almidón, derivados de celulosa, polímeros carboxivinílicos, silicatos de magnesio y aluminio.

**\_Pastas.** Contienen elevadas proporciones de sólidos finamente dispersos en el excipiente por lo que, generalmente, su consistencia es bastante elevada.

## **B) Excipientes y bases para pomadas**

El principal papel del excipiente es servir de soporte al principio activo que se desea aplicar sobre la piel, aunque el excipiente podrá influir en la penetración del principio activo hacia lugares más o menos profundos situados por debajo de la zona de aplicación y contribuir de este modo en la eficacia del preparado.

En algunos casos (pomadas protectoras) el excipiente puede influir en la capacidad de protección final de la pomada frente a diversos agentes externos o incluso desprovistos de medicamentos propiamente dichos, puede utilizarse como protector. En otros casos, el excipiente contribuye a mantener las características físicas y químicas de la piel normal (grado de humedad, pH), mejorando así sus mecanismos de defensa.

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

Deben ser *bien tolerados* y no manifestar acciones que los inhabiliten (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 que su extensión sobre la piel o las cavidades mucosas 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.

## C) Métodos generales de preparación de pomadas

### De acuerdo al principio activo:

La interposición de la sustancia medicinal en el excipiente seleccionado es uno de los aspectos que determinan el procedimiento utilizado en la preparación de una pomada. De acuerdo con las características de solubilidad de los medicamentos, estos pueden disolverse o bien quedar incorporados en forma de suspensión en el excipiente; se puede hablar por tanto de *pomadas solución* y *pomadas suspensión*.

#### \_ Pomadas solución

Algunos principios activos son suficientemente solubles en vaselina y algunas grasas, de modo que pueden prepararse pomadas solución. Deberán prepararse en la medida de lo posible, a la temperatura que prevalecerá durante su conservación y almacenaje.

#### \_ Pomadas suspensión

Constituyen un grupo muy extenso entre las pomadas. Es necesario esforzarse para conseguir que la sustancia medicinal quede incorporada en forma de partículas muy finas, como máximo alrededor de 50 micras.

#### \_ Pomadas emulsión

La preparación de las pomadas emulsión se realiza generalmente a temperatura superior a la ambiente. La fase grasa se calienta a la temperatura de fusión de

sus componentes, generalmente alrededor de 70 - 72°C. La fase acuosa se calienta a la misma temperatura.

#### \_Hidrogeles

En la preparación de pomadas hidrogel intervienen el agua, el agente gelificante seleccionado, a la concentración conveniente para obtener la consistencia adecuada; además, se requiere la adición de una sustancia higroscópica como la glicerina, el propilenglicol o el sorbitol, que impida la desecación rápida una vez que la preparación se aplica sobre la piel. [41]

#### **De acuerdo a la tecnología:**

Se preparan por tres métodos generales:

- ✓ Mezclado mecánico de los ingredientes,
- ✓ Por fusión

\_Mezclado mecánico.- Se usa cuando el excipiente está constituido por agentes grasos blandos y aceites; Es el método que se usa con más frecuencia.

Puede utilizarse triturando los ingredientes en un mortero hasta que se obtenga una pomada homogénea o bien sobre una placa de loza y espátula., también puede usarse una plancha de vidrio ya que es más fácil de limpiar.

Se prefieren los morteros cuando hay que incorporar mucho líquido o cuando hay que mezclar dos partes de muy diferente consistencia, una muy compacta y otra muy blanda.

\_Por fusión.- Cuando se emplean ceras e ingredientes de mayor punto de fusión o se han de mezclar sólidos que funden con facilidad con agentes blandos, lo mejor es fundir ambos, mezclarlos bien y agitar mientras se enfría la mezcla. [39]

#### **D) Estabilidad y ensayos de las pomadas**

Los ensayos que deben practicarse dependen, en gran medida, del tipo de pomada de que se trate y del uso a que se destine (Cuadro N°01).

Los aspectos generales concernientes a la estabilidad física y química de los preparados de uso tópico son similares a los estudiados en otras formas farmacéuticas.

*Cuadro N° 01. Aspectos que deben ser objeto de ensayo en pomadas*

Estabilidad de los componentes activos.
Estabilidad de los coadyuvantes.
Comportamiento reológico: consistencia, extensibilidad.
Pérdida de agua y otros componentes volátiles.
Homogeneidad: separación de fases, formación de exudados.
Tamaño de partícula de la fase dispersa: distribución de tamaño.
pH aparente
Contaminaciones: partículas extrañas, microorganismos.

## **E) Acondicionamiento y conservación**

Las pomadas deben conservarse en recipientes cerrados y completamente llenos y a ser posible a temperatura constante. Variaciones en la temperatura pueden conducir a cristalizaciones de la sustancia medicinal y a modificaciones importantes en el excipiente. Las que contengan agua u otros componentes volátiles deben envasarse en recipientes herméticos para prevenir la evaporación. Las estériles tienen que dispensarse en tubos, con el fin de proteger el producto durante su uso, o en recipientes unidosis <sup>[41]</sup>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. MATERIALES

##### 3.1.1. Muestra vegetal

Hojas de *Senecio nutans Schulz Bipontinus* "chocra"

##### 3.1.2. Material biológico

Ratas albinas hembras de la cepa Holtzman de aproximadamente 2 - 3 meses de edad y peso entre 160±20g.

##### 3.1.3. Materiales de laboratorio

\_ Material de vidrio:

Material de medida de volumen de 0.5 ml - 500 ml (probetas, pipetas de 1 - 10 ml), baguetas, vasos precipitados de 50 - 400ml, embudos, matraces cónicos de 2000 ml, frascos de distintos tamaños, tubos de ensayo, balones para el rotavapor, luna de reloj, viales, picnómetro de 10 cm<sup>3</sup> y 50 cm<sup>3</sup>, portaobjeto, placas de vidrio 20x20 cm, varilla de vidrio, tubo de vidrio estandarizado, pera de bromo, placas Petri, matraz 150 ml, fiola de 25 ml, bureta de vidrio.

\_ Otros:

Espátula, soporte universal, desecador, portador de embudo, mortero de porcelana, placa excavadora de porcelana, gradilla, agitador magnético, termómetro, pinzas de metal.

### **3.1.4. Equipos**

- Balanza analítica Sartorius LH – 110
- Balanza digital BOECO
- Evaporador rotatorio BÜCHI Heating
- Equipo de maceración
- Pletismómetro digital LE – 7500
- Molino manual
- Baño maría PRECISION SCIENTIFIC CO
- Microscopio
- Equipo penetrométrico
- Potenciómetro portátil Modelo HANNA.
- Estufa BINDER
- Refrigeradora
- Plancha calefactora

### **3.1.5. Solventes y reactivos**

- Etanol de 70° y 96°
- Agua destilada
- Ácido clorhídrico al 1%
- Hidróxido de amonio
- Diclorometano
- Reactivos necesarios para la identificación de los metabolitos secundarios según la marcha fitoquímica.

- Fenolftaleína al 1%
- Soluciones Buffer de pH 4,0 y 7,0
- Carragenina al 1%
- Suero fisiológico 9°/∞
- Bencina, vaselina líquida y glicerina.
- Twen 20 y 80

### **3.1.6. Excipientes**

- Alcohol cetílico
- Cera blanca
- Laurilsulfato de sodio
- Propilenglicol
- Vaselina sólida
- Lanolina
- Carbopol
- TEA

### **3.1.7. Fármacos**

- TURBOGESIC® (Diclofenaco al 1%) – crema.
- Diclofenaco 25 mg/ml x 3ml – ampolla.

### **3.1.8. Medios de cultivo**

- Medio agar Tripticasa soya
- Medio agar dextrosa sabourad 4%
- Medio agar Mac Conkey
- Medio agar Salmonella Shigella
- Medio agar Baird – Parker
- Medio agar Cetrimide
- Caldo Tripticasa soya
- Caldo lactosado

### **3.1.9. Materiales clínicos y otros**

- Papel de filtro para filtración rápida
- Papel aluminio
- Papel Kraft
- Papel milimetrado
- Jeringas descartables de 1mL, 3mL y 10mL.
- Algodón
- Papel tissue
- Aguja n°25 x <sup>5</sup>/<sub>8</sub>

## **3.2. METODOLOGÍA**

### **3.2.1. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL**

La especie vegetal *Senecio nutans Schulz Bipontinus* fue recolectada en Puquio capital de la provincia de Lucanas, departamento de Ayacucho, aproximadamente a una altura de 3650 msnm gracias a pobladores cercanos a su ubicación, el 18 de noviembre del 2012. Durante este proceso se seleccionó una muestra completa para su respectiva clasificación taxonómica. Esta fue realizada por el Biólogo, Mg. David M. Miranda Huamán con CBP N° 3681 perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica (Ver ANEXO N° 01).

### **3.2.2. PREPARACIÓN Y TRATAMIENTO DE LA ESPECIE VEGETAL**

La muestra vegetal fue secada bajo sombra a temperatura de ambiente  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante un periodo de 10 días para luego seleccionar y separar las hojas de las flores y tallos. La molienda de las hojas secas se realizó en un molino manual hasta obtener el tamaño adecuado de muestra.

### **3.2.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO**

Primeramente se obtuvo el extracto fluido etanólico de *Senecio nutans Sch. Bip* por maceración de las hojas secas y pulverizadas. Se realizó con alcohol de 96° durante 7 días, luego se filtró y guardó el sobrenadante en frasco de vidrio. Posteriormente es separado el 80 % del extracto fluido etanólico para la elaboración de la forma farmacéutica semisólida y el restante fue destinado a

los ensayos necesarios. Se concentró una parte del extracto fluido destinado para la forma farmacéutica semisólida, obteniéndose un segundo extracto; blando de aspecto semisólido y naturaleza oleosa, del cual se separó una porción para los ensayos necesarios. Resultando así dos tipos de extracto aptos para los controles de pre - formulación y diseño de la formulación.

#### **3.2.4. IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS**

Se realiza la extracción de los metabolitos secundarios con solventes apropiados. La extracción y/o fraccionamiento de los extractos se realiza con el fin de aislar los grupos de mayor interés. Para este ensayo se tomaron 10g de extracto etanólico blando a fin de realizar un screening fitoquímico. Los metabolitos secundarios se identificaron mediante reacciones de coloración y/o precipitación. (Ver Fluxograma N°01).

## **A) OBTENCIÓN DE LAS FRACCIONES PARA LA MARCHA FITOQUÍMICA**

Del extracto etanólico blando se separó una pequeña porción a la que denominamos FRACCIÓN A. El resto se extrajo con ácido clorhídrico al 1%, para luego filtrarlo y obtener dos partes.

**1.- Insoluble;** Se lava hasta pH neutro con agua destilada, seguidamente se disuelve con diclorometano y se seca obteniéndose la FRACCIÓN B.

**2.-Solución ácida;** se filtra y alcaliniza con 3mL de hidróxido de amonio, extrayéndose con diclorometano (2x25 mL) obteniéndose dos fases:

**\_ Fase diclorometánica:** Se filtra obteniéndose la FRACCIÓN C

**\_ Fase acuosa:** Se extrae con diclorometano:etanol (3:2) obteniéndose dos fases:

**Fase orgánica.-** (diclorometánica - etanólica). Se deshidrata y filtra. Esto constituye la FRACCIÓN D.

**Fase acuosa.-** Constituye la FRACCIÓN E.

Por otro lado se mezcla 1 gramo de droga seca con 20 mL de agua y se agita. Dejamos hervir durante 15 minutos. Luego procedimos a filtrar en caliente y completar a volumen (20 mL) a través del filtro. Dejamos enfriar a temperatura de ambiente constituyendo la FRACCIÓN F. [4] [42]

## **B) DETECCIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES Y METABOLITOS SECUNDARIOS SOBRE LAS FRACCIONES**

### **\_ FRACCIÓN A:**

#### **1.- Detección de taninos y grupos fenólicos libres:**

**Reacción de Gelatina-sal.**-Se tomaron tres tubos de ensayo y en cada uno de ellos se vierte, 0.5 mL de la fracción A (disuelta en agua).

Tubo N°1. Se agrega, 2mL de solución de NaCl 5 %.

Tubo N°2. Se agrega, 2mL de solución de gelatina al 1%.

Tubo N°3. Se agrega, 1mL de solución de NaCl 5 % y 1mL solución de gelatina al 1% (solución gelatina-sal).

*Interpretación;* La precipitación con este último reactivo o con ambos; el 1° y 2°, es indicativo de la presencia de taninos, si solo ocurre con el 1°, es probable que sea un falso positivo.

**Reacción de Cloruro férrico.**- Se Colocó en un tubo de ensayo 0.5 mL de la fracción A (disuelta en etanol) y se le agregó una gota de solución acuosa de FeCl<sub>3</sub> 1%.

*Interpretación;* La reacción es positiva para grupos fenólicos libres cuando aparecen colores azul-negro, verde o azul verdoso.

#### **2.- Detección de aminoácidos:**

**Reacción de Ninhidrina.**-Se colocó con una pipeta capilar sobre tiras de papel de filtro, una gota de fracción A + una gota del reactivo Ninhidrina al 2%. El BLANCO fue la solución etanólica de Ninhidrina al 2%.

Luego del secado a T° ambiente, las tiras de papel se colocaron en calor hasta la aparición de una mancha de color azul violáceo en el BLANCO (solución testigo).

*Interpretación;* La reacción es positiva si el papel de la muestra presenta un color azul violáceo.

### **3.- Detección de Flavonoides:**

**Reacción de Shinoda.-** En una placa se vertieron 3 gotas de la fracción A, 5 limaduras de Magnesio y 2 gotas de HCl concentrado.

*Interpretación;* La reacción es positiva cuando aparecen tonos de color rojo, anaranjado y violeta.

## **\_FRACCIÓN B**

### **1.- Detección de Triterpenoides y/o Esteroides:**

**Reacción de Liebermann Burchard.-**En una placa se disolvió una pequeña cantidad de la fracción B en diclorometano y 5 gotas de anhídrido acético y a continuación 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

*Interpretación;* La reacción es positiva si aparecen colores verde, azul verdoso (rojo o azul).

### **2.- Detección de Antraquinonas:**

**Reacción de Bornträger.-** Se tomó una cantidad de fracción B y se disolvió en diclorometano, luego se agregaron 3 mL de NaOH al 5%. Se tapó el tubo de ensayo y agitó suavemente.

*Interpretación;* la reacción es positiva si la fase acuosa toma un color rojo.

## **\_FRACCIÓN C**

### **1.- Detección de Esteroides y/o Triterpenoides:**

**Reacción de Liebermann Burchard.**- Se realizó el mismo procedimiento e interpretación que para la fracción B.

### **2.- Detección de Alcaloides:**

El resto de la fracción C se evapora a sequedad y luego se agregaron 2mL de HCl al 1%, filtrar. Se realizan las reacciones de precipitación; Dragendorff, Mayer, Wagner.

*Interpretación;* la reacción es positiva si aparece un precipitado.

Dragendorff: pp color anaranjado.

Mayer: pp de color blanco cremoso.

Wagner: pp de color marrón.

## **\_FRACCIÓN D**

Se evaporó a sequedad y luego se agregó 2.5 mL de etanol, efectuándose las siguientes reacciones(a excepción de la reacción de Liebermann Burchard y reacciones para la detección de alcaloides que fue disuelto en Diclorometano y HCl 1% respectivamente):

### **1.- Detección de Flavonoides:**

**Reacción de Shinoda.**-Se realizó el mismo procedimiento e interpretación que para la fracción A.

## **2.- Detección de Leucoantocianidinas y catequinas:**

**Reacción de Rosenheim.-** A 0.2 mL de la fracción D se agregó 0.1 mL de HCl concentrado, calentándolo por 10 minutos a 100 C°. Se enfría y luego se adiciona 2 mL de agua destilada y 0.4 mL de alcohol amílico, se agita y finalmente se observa el color de la fase amílica.

*Interpretación;* La reacción se considera positiva si aparece un color que va desde el rosado débil hasta carmesí oscuro. Si es rojo es indicativo de presencia de antocianidinas. Si es marrón presencia de catequinas.

## **3.- Detección de Esteroides y/o Triterpenoides:**

**Reacción de Liebermann Burchard.-** Se realizó el mismo procedimiento e interpretación que para la fracción C.

## **4.- Detección de Alcaloides:**

**Reacción de Mayer, Dragendorff y Wagner.-** Se realizó el mismo procedimiento e interpretación que para la fracción C.

## **\_ FRACCIÓN E**

### **1.- Detección de Flavonoides:**

**Reacción de Shinoda.-** Se realizó el mismo procedimiento e interpretación que para la fracción A.

### **2.- Detección de Leucoantocianidinas:**

**Reacción de Rosenheim.-** Se realizó el mismo procedimiento e interpretación que para la fracción D.

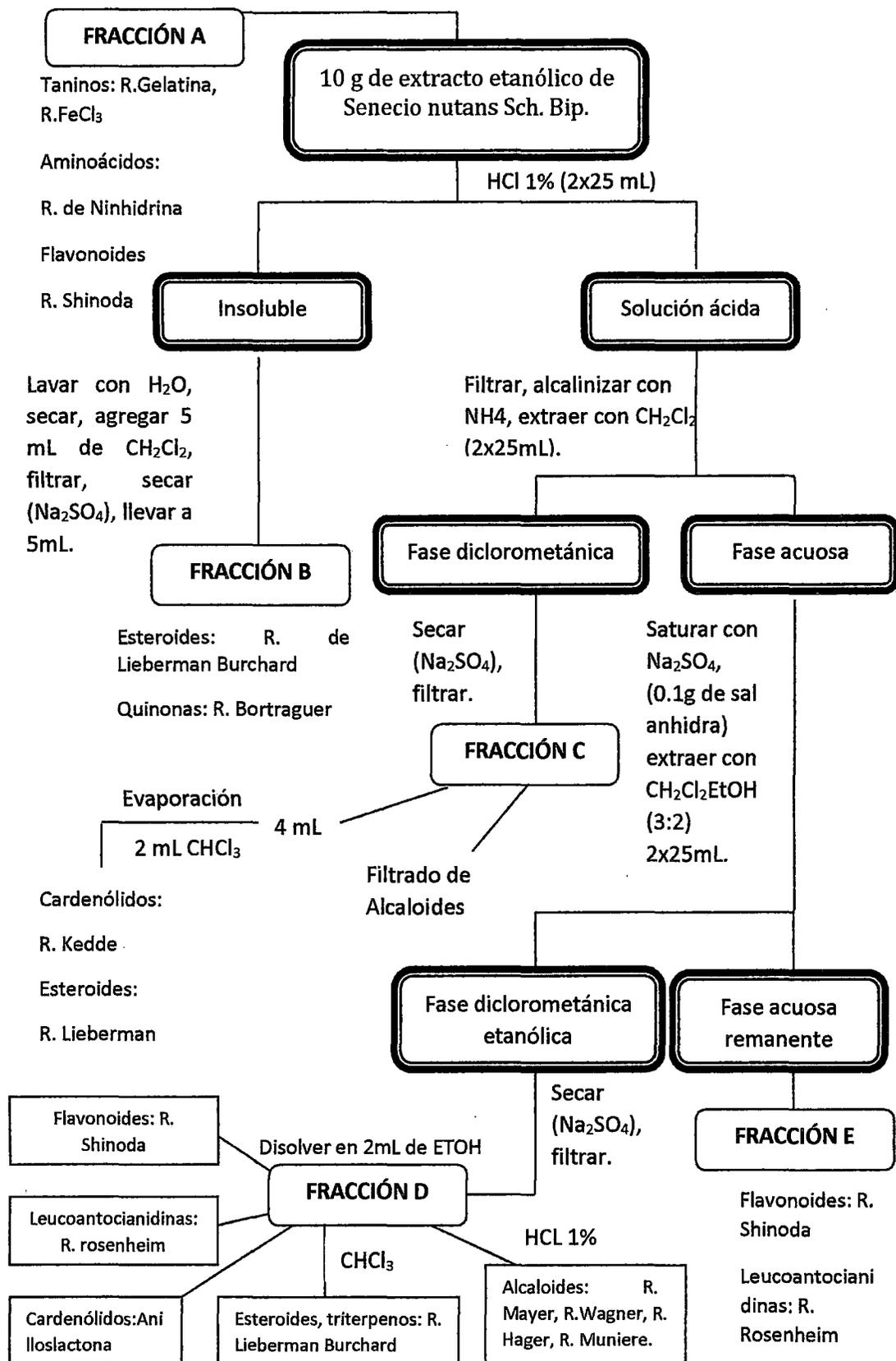
## **\_ FRACCIÓN F**

### **1.- Detección de Saponinas:**

**Prueba de espuma.-** En dos tubos de ensayo se agitaron 2.5 mL de la fracción F por un minuto.

Se dejó reposar 15 minutos y se observó la formación de espuma.

*Interpretación:* Se considera negativa la reacción si la altura de la espuma es menor de 5 mm. <sup>[42]</sup>



**FLUXOGRAMA N°1. Marcha fitoquímica de Senecio nutans Sch. Bip.**

### **3.2.5, DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO.**

#### **Método de edema plantar inducido por carragenina.**

##### **Fundamento**

El método del edema plantar inducido por carragenina fue descrito por primera vez por Winter *et al* y posteriormente modificado por Sugishita *et al.* (1981). Consiste en la administración subcutánea de una pseudosolución de  $\lambda$  carragenina, un mucopolisacárido surfatado extraído del alga marina *Chondrus crispus*, a nivel de la aponeurosis plantar de la pata de la rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por liberación de diversos autacoides (histamina, serotonina, bradiquinina, prostaglandinas, etc.). El producto a ensayar se puede administrar por diferentes vías.

La actividad antiinflamatoria de este test guarda una buena correlación con la actividad antiinflamatoria en clínica. [43]

##### **Diseño experimental**

Diseño entre grupos, aleatorizado.

##### **Animales de experimentación**

Para el ensayo se emplearon ratas albinas hembras de la cepa Holtzman con pesos entre 140 g a 170 g, adquiridas en el bioterio de la “Universidad Nacional Agraria La Molina”, acondicionadas por una semana con libertad de comer y beber. En ayunas de 12 horas antes de realizar el ensayo.

## Descripción de la técnica

Se dividieron en tres grupos de cinco en forma aleatoria: Grupo control (+): Diclofenaco 7.5mg/Kg; grupo control (-): solución de Twen 80: Etanol: Agua (0.5:0.5:9) usado como vehículo; y como grupo experimental: el extracto etanólico blando a una concentración del 3% disuelto en el vehículo, administrado en dosis de 300mg/Kg.

Antes del experimento se miden los volúmenes normales de la pata izquierda posterior de las ratas ( $V_0$ : Volumen basal) por inmersión de la misma hasta el maléolo lateral en la solución salina preparada al 0.1% que contiene el pocillo del pletismómetro digital. Seguidamente fueron administradas las sustancias que corresponden a cada grupo por vía intraperitoneal, a excepción del fármaco que fue administrado por vía intramuscular. Treinta minutos después se inyectó 0.1ml de una disolución de carragenina al 1% en la aponeurosis plantar de la pata izquierda posterior del animal. La medida de volumen de la pata inflamada de cada rata ( $V_t$ ) se realizó 1, 3, 5 y 7 horas después de producida la inflamación.

El porcentaje de inflamación (I%) se calcula por la siguiente fórmula:

$$I\% = \frac{(V_t - V_0)}{V_0} \times 100$$

Donde:

$V_t$  = Volumen de la pata inflamada en un tiempo t

$V_0$  = Volumen basal

Y el porcentaje de inhibición se determina mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inh. Infl} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde:

C = Valor medio del porcentaje de inflamación de los animales del grupo control.

T = Valor medio del porcentaje de inflamación de los animales del grupo problema. [2][4][43]

### **3.2.6. ELABORACIÓN DE LA FORMA FARMACEÚTICA**

#### **3.2.6.1. PREFORMULACIÓN**

**CONTROLES FISICOQUÍMICOS AL EXTRACTO FLUIDO.**-En una primera etapa se realizaron los controles fisicoquímicos al extracto fluido: aspecto, densidad, pH y sólidos totales

##### **a) Determinación del aspecto, color y olor**

Se procede a analizar el aspecto, color y olor del extracto mediante visualización directa. El aspecto se determina observando a contra luz la presencia de partículas y/o turbidez en el tubo de ensayo.

### a) **Determinación de densidad relativa**

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar en determinadas condiciones de temperatura y la masa de un volumen igual de agua en las mismas condiciones.

En primer lugar se pesa el picnómetro vacío y seco, luego se llena con la porción de ensayo hasta el nivel empleado, a una temperatura de 20 C°, es secado exteriormente y pesado.

Se repite la operación con el agua destilada a la misma temperatura. Se calcula con la siguiente fórmula:

$$D = \frac{P1 - P}{P2 - P}$$

Donde:

P1= Peso del picnómetro con la muestra.

P2= Peso del picnómetro con agua

P= Peso del picnómetro vacío.

### b) **Determinación de pH**

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos.

En la práctica se ajusta el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en el que se realizará la determinación del valor del pH de la muestra. Se introduce directamente los detectores del potenciómetro digital en el extracto y se realiza la lectura.

### c) Determinación de sólidos totales

Es la determinación de la variación de la masa por pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor, mediante un proceso de evaporación y secado en estufa hasta peso constante.

10 ml de extracto fluido etanólico se transfieren en dos placas Petri (una sobre otra) y lleva a Baño María a 70 C°, hasta su evaporación. Se pasa entonces hacia una estufa a 70 C° por 2 horas y media (una placa Petri como cubierta). Se retira de la estufa y se coloca en una desecadora hasta que alcance temperatura de ambiente.

La cantidad de sólidos totales, expresado en %, se calcula por la siguiente fórmula;

$$St = \frac{Pr - P}{V} * 100$$

Donde:

Pr = masa de las Placas más el residuo (g).

P = masa de las Placas vacías (g).

V = volumen de la porción de ensayo.

100 = factor matemático para el cálculo.

**CONTROLES FISICOQUÍMICOS AL EXTRACTO BLANDO.**-En una segunda etapa se realizaron los controles fisicoquímicos al extracto etanólico blando: aspecto, color, olor, densidad relativa y pH.

**a) Determinación del aspecto, color y olor**

Al extracto se procede a analizar el aspecto, color y olor mediante visualización directa. El aspecto se determina observando a contra luz la presencia de partículas y/o turbidez en el tubo de ensayo.

**b) Determinación de densidad relativa**

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar en determinadas condiciones de temperatura y la masa de un volumen igual de agua en las mismas condiciones.

En primer lugar se pesa el picnómetro vacío y seco, luego se llena con la porción de ensayo hasta el nivel empleado, a una temperatura de 20 C°, es secado exteriormente y pesado.

Se repite la operación con el agua destilada a la misma temperatura. Se calcula con la siguiente fórmula:

$$D = \frac{P1 - P}{P2 - P}$$

Donde:

P1= Peso del picnómetro con la muestra.

P2= Peso del picnómetro con agua

P = Peso del picnómetro vacío.

### **c) Determinación de pH**

En la práctica se ajusta el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en el que se realizará la determinación del valor del pH de la muestra. Se introduce directamente los detectores del potenciómetro digital en un vaso precipitado con 1g de extracto y 10 ml de agua destilada y se realiza la lectura.

[40][44]

### **ENSAYOS DE SOLUBILIDAD:**

Se realizaron las pruebas de solubilidad al extracto fluido y luego al extracto blando, para así encontrar el solvente adecuado para la forma farmacéutica semisólida a escoger.

Para cada extracto se utilizan seis tubos de ensayo. En cada uno se colocan 0.5 ml de extracto y se adicionan 2 ml de solvente.

Solventes utilizados: Alcohol, bencina, agua fría, agua caliente, glicerina y vaselina líquida.

### **ENSAYOS PRELIMINARES CON LOS EXCIPIENTES:**

Se realizaron ensayos preliminares de compatibilidad de excipientes en tres tipos de formas farmacéuticas semisólidas, y así poder elaborar la más adecuada. Todas se prepararon a una concentración del 10%. Las formulaciones preparadas fueron:

- ✓ Crema hidrófila O/W al 10%
- ✓ Pomada hidrófoba (propriadamente dicha) con base de absorción al 10%

- ✓ Gel hidrófilo alcohólico al 10%

También se realizaron ensayos piloto de estabilidad y organolépticos, para seleccionar según las características que de forma general deben reunir los excipientes.

### 3.2.6.2. FORMULACIÓN

Luego de realizar ensayos preliminares para la obtención de la fórmula final, optamos por seleccionar la que presentaba mejores propiedades. La fórmula seleccionada fue la pomada Hidrófoba con base de absorción. Fueron preparadas dos formulaciones; una pomada al 30 % de extracto fluido etanólico y otra pomada al 30% de extracto blando etanólico, ambas a partir de la especie *Senecio nutans Sch. Bip*, la concentración escogida fue para obtener un apropiado efecto antiinflamatorio de acuerdo a los resultados en la determinación de la actividad antiinflamatoria con el extracto etanólico y según la complejidad de la incorporación de ambos extractos en las bases correspondientes.

La composición de las pomadas es la siguiente:

- Vaselina al 90%; como base hidrocarburada.
- Lanolina al 10%; como base de absorción.

La técnica de preparación fue por suspensión para la pomada al 30% de extracto fluido y de solución para la pomada al 30% de extracto blando. Los extractos fueron adicionados durante el proceso, cada uno en su correspondiente formulación.

### **3.2.7. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LAS POMADAS AL 30% DE EXTRACTO ETANÓLICO.**

#### **Animales de experimentación**

Para el ensayo se emplearon ratas albinas hembras de la especie Holtzman con pesos entre 140 g a 170 g, adquiridas en el bioterio de la "Universidad Nacional Agraria La Molina", acondicionadas por una semana con libertad de comer y beber. En ayunas de 12 horas antes de realizar el ensayo.

#### **Descripción de la técnica**

Se dividieron en tres grupos de cinco en forma aleatoria: Grupo control (+), grupo control (-) y grupos experimentales, administrándose las sustancias siguientes: como fármaco; TURBOGESIC® (Diclofenaco al 1%); Se unto en la piel de la pata un gramo de la crema; como vehículo, las bases correspondientes (vaselina y lanolina en concentración de 9:1 respectivamente) a dosis de 1g y como muestras problemas; la pomada elaborada al 30% de extracto fluido etanólico y la pomada elaborada al 30 % de extracto blando etanólico, fueron administradas en dosis de 1 g, respectivamente.

Antes del experimento se miden los volúmenes normales de la pata izquierda posterior de las ratas ( $V_0$ : Volumen basal) por inmersión de la misma hasta el maléolo lateral en la solución salina preparada al 0.1% que contiene el pocillo del pletismómetro digital. Seguidamente fueron administradas las sustancias que corresponden a cada grupo por vía tópica (se unto en la piel de la pata 1g de la muestra a ensayar). Cuarenta minutos después se inyectó 0.1ml de una

disolución de carragenina al 1% en la aponeurosis plantar de la pata izquierda posterior del animal. La medida de volumen de la pata inflamada de cada rata ( $V_t$ ) se realizó 1, 3, 5 y 7 horas después de producida la inflamación.

El porcentaje de inflamación (%I) se calcula por la siguiente fórmula:

$$I\% = \frac{(V_t - V_0)}{V_0} \times 100$$

Donde:

$V_t$  = Volumen de la pata inflamada en un tiempo t

$V_0$  = Volumen basal

Y el porcentaje de inhibición se determina mediante la siguiente fórmula:

$$\%Inh. Infl = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde:

C = Valor medio del porcentaje de inflamación de los animales del grupo control.

T = El porcentaje de los grupos problema. [43]

### **3.2.8. CONTROL DEL PRODUCTO TERMINADO**

Según los resultados en la evaluación del efecto antiinflamatorio, se escogió como producto terminado a la pomada con base de absorción, elaborada al 30 % de extracto blando etanólico.

#### **3.2.8.1. ENSAYOS ORGANOLÉPTICOS**

Se realiza una completa descripción cualitativa de la forma farmacéutica semisólida: color, olor y aspecto.

**a) Determinación del olor.**

Se introdujo una tira de papel en un extremo de la muestra de ensayo y se percibió la característica del olor.

**b) Determinación del color.**

Un tubo de ensayo limpio y seco se llenó con la muestra hasta las tres cuartas partes del mismo y se observó el color, la transparencia y la presencia de partículas.

**c) Determinación del aspecto.**

Mediante visualización directa. Luego se tomó una pequeña cantidad de la pomada con los dedos y se aplicó suavemente en el dorso de la mano y así se observó si hay presencia o ausencia de grumos. <sup>[40]</sup>[44]

### **3.2.8.2. ENSAYOS FISICOQUÍMICOS**

#### **a) Determinación de homogeneidad**

Se realizó macroscópicamente extendiendo una capa delgada de pomada sobre una superficie plana, observándose la uniformidad del preparado. Se realizó también el examen microscópico confirmando la buena dispersión y verificando el tamaño de las partículas y su distribución uniforme. [38] [45]

#### **b) Determinación de dureza o consistencia**

Se llenó un vaso de 50mL (diámetro: 37-39mm, altura: 67-71 mm) con la pomada a ensayar sin calentarla, cuidando de que no queden atrapadas burbujas de aire, alisándose la superficie. La muestra fue guardada 16 horas a 20°C y antes de la determinación se colocó en un baño de agua a 20°C ± 1°C. Para realizar la determinación de la consistencia se usó una varilla de vidrio normalizada (con masa 8,00 g, diámetro 4,50 mm, longitud 200mm), que se dejó caer sobre la pomada desde 300 mm de altura, a través de un tubo de vidrio colocado verticalmente sobre la muestra (longitud 400 mm, diámetro 8 mm), y separado 2-3 mm de la superficie de la pomada. Se calculó la profundidad de la penetración de la varilla de vidrio al cabo de 5 segundos. El valor medio de los resultados de al menos 3 determinaciones en la misma muestra de pomada se utilizó como base de evaluación. La profundidad de penetración debe ser de al menos 10 mm y como máximo 50mm. [38] [46]

**c) Determinación de extensibilidad**

Se tomaron 2 láminas de vidrio de 20 x 20 cm, y se colocó una de ellas sobre papel milimetrado con un sistema de ejes cartesianos trazado previamente. Se añadieron 2g de la pomada y sobre este se colocó cuidadosamente otra lámina de vidrio de iguales dimensiones y un peso de 200g.

Transcurrido 5 minutos, se determinó la distancia desde el punto de aplicación hasta el borde del semisólido extendido.

Se calculó el área de la circunferencia formada aplicando la siguiente fórmula:

$$A = \pi (d1 \times d2) / 4$$

A: área de la circunferencia formada (mm<sup>2</sup>)

d1 y d2: semidiámetros perpendiculares a la elipse o circunferencia formada (mm)

Se aplicó por triplicado y se determinó la X y la DE. [47]

**d) Determinación del pH**

Conviene conocer el pH de una pomada porque el mismo influye sobre la estabilidad de la misma y de sus principios activos, sobre la compatibilidad de los excipientes y sobre el pH de la piel misma, que puede modificar. [38]

Se efectuó la lectura del pH, utilizando un potenciómetro digital, previamente estandarizado con buffer pH 4.0 y 7.0. Se introduce directamente los detectores

del potenciómetro digital en un vaso precipitado con 1g de pomada y 10 ml de agua destilada y se realiza la lectura. [45] [46]

e) **Determinación del índice de acidez**

El índice de acidez se expresa en número de mg de hidróxido potásico necesarios para neutralizar un g de grasa o aceite. La muestra fue disuelta en una mezcla de alcohol previamente neutralizada con fenolftaleína e hidróxido de sodio 0.1N. Luego se realizó la titulación potenciométrica con hidróxido de sodio 0.02 N hasta pH 8,3; que representa el punto final de la reacción.

Primeramente se determina el grado de acidez; el cual es el porcentaje de los ácidos libres contenidos en la muestra. En los aceites vegetales se expresa como si todos los ácidos libres fueran ácido oleico (C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>). Salvo otra indicación, la acidez se expresa en g de ácido oleico por 100 g de grasa (%m/m).

$$\% \text{ Ac. Grasos libres, oleico} = \frac{\text{ml del álcali} \times N \times 28,2}{\text{Gramos de muestra}}$$

El índice de acidez se calculó con la siguiente fórmula: [45] [48]

$$i.a = \% \text{ á. Grasos libres} * 1,99$$

### 3.2.8.3. ENSAYOS DE ESTABILIDAD

Es la extensión o el tiempo durante el cual un producto mantiene dentro de los límites específicos y a través del periodo de almacenamiento y uso las mismas

propiedades y características que poseía en el momento de su fabricación, esto es, sus características físicas, químicas, biológicas y microbiológicas.

**a) Envejecimiento acelerado**

La técnica consistió en someter una muestra de la pomada a exposiciones cíclicas de frío - calor de 5 C° y 40 C° cada 6 horas por 48 horas, al finalizar el ensayo se observó si mantuvo o no la consistencia original.<sup>[38]</sup>

**b) Reversibilidad**

Consistió en calentar en baño maría con agitación el preparado y luego enfriarlo (sin refrigerar) en tanto se sigue agitando. Al finalizar el ensayo se observó si el preparado se mantuvo homogéneo y con la consistencia original.

**c) Análisis periódico del preparado**

El objetivo de este ensayo fue; analizar la estabilidad del preparado por un tiempo determinado, se efectuaron exámenes organolépticos y físicos a temperatura de ambiente.

- Preparación (fecha inicial)
- Después de una semana
- Después de dos semanas
- Después de tres semanas
- Después de cuatro semanas
- Después de dos meses<sup>[46]</sup>

#### **3.2.8.4. EXAMEN MICROBIOLÓGICO**

Forma parte del control de calidad microbiológico del preparado. Consistió en preparar una muestra representativa a partir del producto terminado, que fue cultivada e incubada a temperatura óptima para poder detectar la presencia de crecimiento microbiano.

Se siguen las normas NF 32 publicadas por la USP 37. *Examen Microbiológico de Productos No Estériles: pruebas de recuento microbiano y Examen Microbiológico de Productos No Estériles: pruebas de microorganismos específicos*; para la examinación de productos no estériles de administración tópica, test de crecimiento microbiano y test para microorganismos específicos.

##### **Preparación de la muestra:**

Se disolvieron 10 gramos de muestra en 90 mL de agua peptonada al 0.1 %; que contiene 2mL de Twen 20; Dilución 1/10. [46]

##### **Recuento de microorganismos aerobios totales (TAMC):**

Método de siembra: Incorporación en placa.

Técnica de recuento: uso del *cuenta colonias*.

Procedimiento: Se pipeteo 1 mL de la dilución 1/10 en cada una de las placas Petri estériles. . Inmediatamente se añadió a cada placa 15 mL de Agar Tripticasa soya (TSA), fundido y enfriado a 45 C°.

Se cubrió la placa Petri, homogenizando con movimientos de rotación y dejándolo solidificar a temperatura de ambiente.

Se invirtieron las placas y llevaron a incubación por 48-72 horas a 30-35 C° de temperatura. Se examinaron las placas y se contaron las colonias. Si se detectan colonias de hongos en este medio, estos son contados junto con los aerobios totales.

Interpretación: Terminado el conteo, se aplica la siguiente fórmula para obtener el No. de UFC/ mL:

$$\text{UFC/mL} \text{ ó } \text{UFC/g} = \text{No. de colonias por placa} \times \text{el factor de dilución/ ml de la muestra sembrada.}$$

\*Factor de dilución: inversa de la dilución.

### **Recuento de hongos y levaduras (TYMC):**

Método de siembra: Incorporación en placa.

Técnica de recuento: uso del *cuenta colonia*.

Procedimiento: Similar al recuento de microorganismos aerobios totales, pero cambia el medio de cultivo; Agar dextrosa Sabouraud 4%, también la temperatura y tiempo de incubación; 20 - 25C° durante un periodo de 5 a 7 días respectivamente.

Interpretación: Terminado el conteo, se obtiene el No. de UFC/ mL.

### **Presencia de microorganismos específicos:**

- Método de siembra: siembra por estrías.
- Cualitativo: ausencia o presencia.

**Medio no selectivo para crecimiento de *Staphylococcus sp.* y *Pseudomona aeruginosa*.**

A 10 mL de la dilución 1/10 se añadió 90 mL de Caldo Trypticase Soya, se mezcló e incubó a una temperatura de 30-35 C° durante 24 a 48 horas. Finalmente se examinó el medio.

**Medio selectivo para *Staphylococcus aureus*.**

La siembra se realizó sobre la superficie del medio de cultivo selectivo, en este caso; Agar Baird – Parker y luego es incubado durante un período de 24 a 48 horas a una temperatura de 30 a 35 C°.

**Medio selectivo para *Pseudomona aeruginosa*.**

La siembra se realizó sobre la superficie del medio de cultivo selectivo, en este caso; Agar Cetrímide y luego es incubado durante un período de 24 a 48 horas a una temperatura de 30 a 35 C°.

**Medio no selectivo para crecimiento de enterobacterias y gram negativas.**

A 10 mL de la dilución 1/10 se añadió 90 mL de Caldo Lactosado, se mezcló e incubó a una temperatura de 30-35 C° durante 24 a 48 horas. Finalmente se examinó el medio.

**Medio selectivo para *Salmonella sp.*-**

La siembra se realizó sobre la superficie del medio de cultivo selectivo, en este caso fue el medio Agar SS y luego se incubó durante un período de 24 a 48 horas a una temperatura de 30 a 35 C°.

**Medio selectivo para *Escherichia coli.*-**

La siembra se realizó sobre la superficie del medio de cultivo selectivo, en este caso; Agar Mac Conckey luego se incubó durante un período de 24 a 48 horas a una temperatura de 30 a 35 C°.

Interpretación: Se detecta la ausencia o presencia del microorganismo específico. Si éste último fuera positivo se realiza la identificación bioquímica del microorganismo. [45][46]

#### IV. RESULTADOS

**Cuadro N°1.** Metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico blando de *Senecio nutans* Schulz Bipontinus.

Metabolitos secundarios	FRACCIONES					
	A	B	C	D	E	F
Flavonoides	+			+	+	
Taninos	-					
Grupos aminos libres	+					
Triterpenos y/o esteroides		+	+	-		
Quinonas		-				
Alcaloides			+	+		
Leucoantocianidinas				-	-	
Catequinas				-	+	
Grupos fenólicos libres	+					
Saponinas						-

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica.

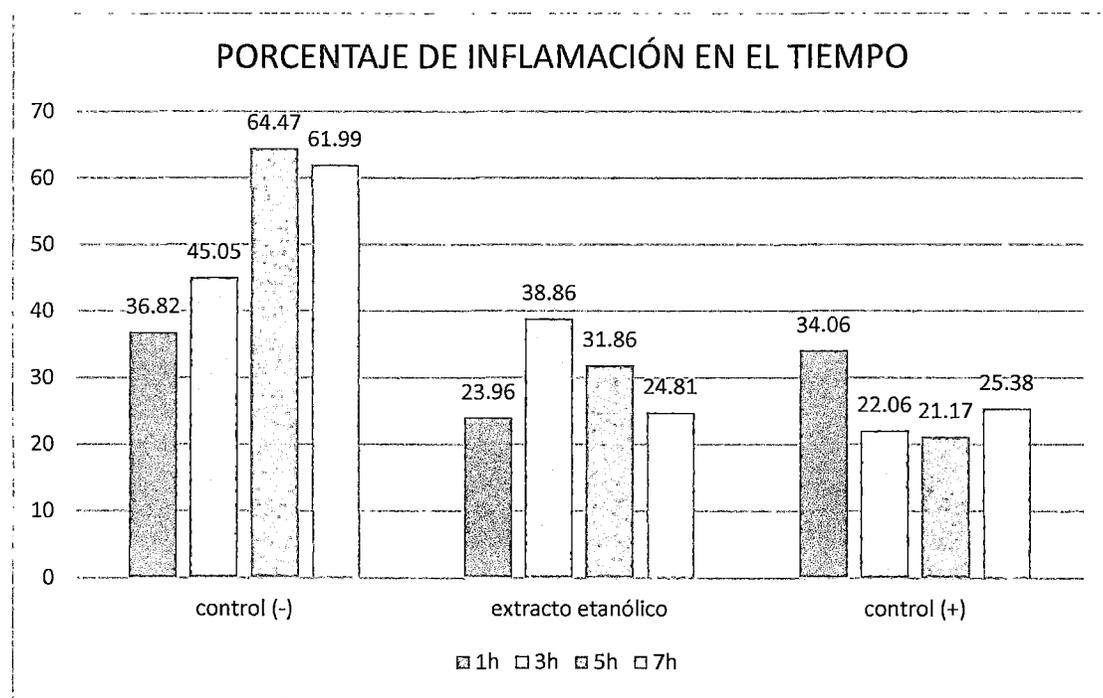
(+): Presencia, (-): Ausencia

**Tabla N°1.** Porcentaje de inflamación del extracto etanólico de *Senecio nutans* Sch. Bip. por el método de edema plantar inducido por carragenina.

GRUPOS	DOSIS	V <sub>0±DE</sub>	% de inflamación en el tiempo ( $\bar{X} \pm DE$ )			
			1h	3h	5h	7h
Control(-)	Vehículo (0.5:0.5:9)	1.03 ± 0.09	36.82 ±4.3	45.05 ±21.2	64.47 ±27.8	61.99 ±8.6
Extracto etanólico	300mg/Kg	0.98 ± 0.1	23.96 ±10.6	38.86 ±21.4	31.86 ±7.6	*24.81 ±3.3
Control(+): Diclofenaco	7.5 mg/Kg	0.99 ± 0.05	34.06 ±14.7	22.06 ±12.9	21.17 ±10.8	*25.38 ±13.2

\*significativamente diferente con respecto al control test de Dunnett p<0.05.

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica.

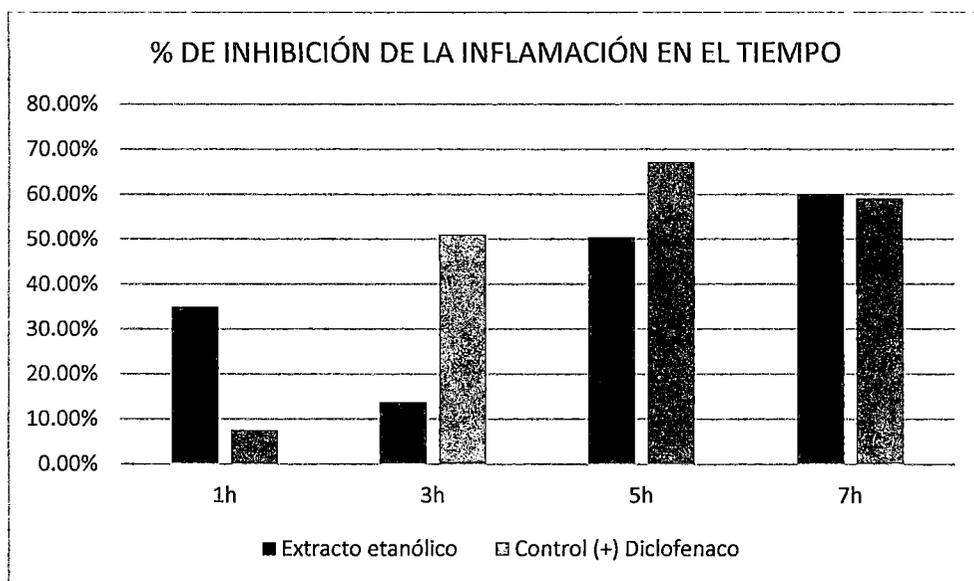


**Gráfico N°1.** Promedio del porcentaje de volumen de edema plantar en la determinación de la actividad antiinflamatoria del *Senecio nutans* Schulz Bipontinus

**Tabla N°2.** Porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto etanólico de *Senecio nutans Sch. Bip.* por el método de edema plantar inducido por carragenina.

GRUPO	DOSIS	% de inhibición de la inflamación en el tiempo			
		1h	3h	5h	7h
Extracto etanólico	300mg/Kg	34.93%	13.74%	50.47%	59.98%
Control (+) Diclofenaco	7.5 mg/Kg	7.5%	51.03%	67.16%	59.06%

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica.



**Gráfico N°2.** Porcentaje de inhibición de la inflamación en la determinación de la actividad antiinflamatoria del *Senecio nutans Schulz Bipontinus*.

**Cuadro N°2.** Resultados de los análisis físicos - químicos y de solubilidad realizados al extracto fluido y blando del *Senecio nutans* Sch. Bip.

PARÁMETRO	RESULTADOS DEL ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO	
	EXTRACTO FLUIDO	EXTRACTO BLANDO
<b>Aspecto</b>	Líquido fluido, homogéneo	Semisólido, homogéneo
<b>Color</b>	Verde oscuro	Verde oscuro intenso
<b>Olor</b>	Intenso, característico de la planta	Intenso, característico de la planta.
<b>Densidad</b>	0.8996 g/ml	1.183 g/ml
<b>pH</b>	3.86	3.27
<b>Sólidos totales</b>	25.987 %	No corresponde
<b>SOLVENTES</b>	<b>RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD</b>	
<b>Alcohol 96°</b>	Muy soluble	Muy soluble
<b>Bencina</b>	Poco soluble	Insoluble
<b>Agua fría</b>	Insoluble	Insoluble
<b>Agua caliente</b>	Insoluble	Insoluble
<b>Glicerina</b>	Insoluble	Insoluble
<b>Vaselina</b>	Poco soluble	Soluble

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica.

**Cuadro N°3.**Ensayos de compatibilidad con los excipientes.

<b>FORMULACIONES</b>	<b>COMPATIBILIDAD CON LOS EXCIPIENTES</b>	<b>EXAMEN ORGANOLÉPTICO INICIAL</b>
<b>F1 : gel al 10%</b>	Poco compatible	<p><b>Aspecto:</b> Consistente, poco homogéneo, poco uniforme.</p> <p><b>Color:</b> Verde opaco con pigmentos verdes oscuros.</p> <p><b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.</p>
<b>F2: crema al 10%</b>	Compatible	<p><b>Aspecto:</b> Consistente, homogéneo, uniforme.</p> <p><b>Color:</b> Verde oscuro.</p> <p><b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.</p>
<b>F3: pomada al 10%</b>	Compatible	<p><b>Aspecto:</b> Consistente, homogéneo, uniforme.</p> <p><b>Color:</b> Verde oscuro intenso.</p> <p><b>Olor:</b> intenso, característico del extracto.</p>

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica.

**Cuadro N°4.** Ensayos preliminares de estabilidad y análisis organoléptico de las formulaciones en el tiempo.

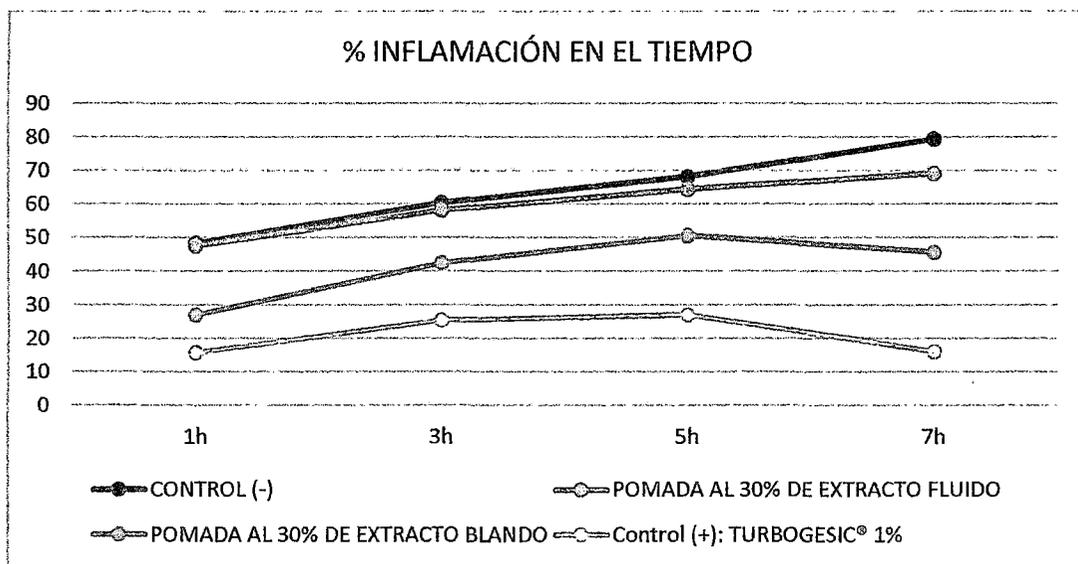
<b>ESTABILIDAD</b>				
<b>ANÁLISIS PERIODICO - EXAMEN ORGANOLÉPTICO</b>				
	<b>2°Semana</b>	<b>4°Semana</b>	<b>6°Semana</b>	<b>8°Semana</b>
<b>F1</b>	<b>Aspecto:</b> Consistente, poco homogéneo, poco uniforme. <b>Color:</b> Verde opaco con pigmentos verdes oscuros. <b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.	<b>Aspecto:</b> Consistente, poco homogéneo, poco uniforme. <b>Color:</b> Verde opaco con pigmentos verdes oscuros. <b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.	<b>Aspecto:</b> Consistente, poco homogéneo, poco uniforme. <b>Color:</b> Verde opaco con pigmentos verdes oscuros. <b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.	<b>Aspecto:</b> Consistente, poco homogéneo, poco uniforme. <b>Color:</b> Verde opaco con pigmentos verdes oscuros. <b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.
<b>F2</b>	<b>Aspecto:</b> Consistente, homogéneo, uniforme. <b>Color:</b> Verde oscuro. <b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.	<b>Aspecto:</b> Consistente, homogéneo, uniforme. <b>Color:</b> Verde oscuro. <b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.	<b>Aspecto:</b> Poco consistente (Presencia de exudados) poco homogéneo, poco uniforme. <b>Color:</b> Verde oscuro. <b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.	<b>Aspecto:</b> Poco consistente (Presencia de exudados) poco homogéneo, poco uniforme. <b>Color:</b> Verde oscuro. <b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.
<b>F3</b>	<b>Aspecto:</b> Consistente, homogéneo, uniforme. <b>Color:</b> Verde oscuro intenso. <b>Olor:</b> intenso, característico del extracto.	<b>Aspecto:</b> Consistente, homogéneo, uniforme. <b>Color:</b> Verde oscuro intenso. <b>Olor:</b> intenso, característico del extracto.	<b>Aspecto:</b> Consistente, homogéneo, uniforme. <b>Color:</b> Verde oscuro intenso. <b>Olor:</b> intenso, característico del extracto.	<b>Aspecto:</b> Consistente, homogéneo, uniforme. <b>Color:</b> Verde oscuro intenso. <b>Olor:</b> moderado, característico del extracto.

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica.

**Tabla N°3.** Promedio del porcentaje de volumen de edema plantar en la evaluación del efecto antiinflamatorio de las pomadas elaboradas al 30%.

GRUPO	DOSIS	V <sub>0</sub> ± DE	% de inflamación en el tiempo ( X ± DE)			
			1h	3h	5h	7h
Control (-)	1 gramo de vaselina: lanolina (9:1)	0.89±0.02	48.4±8.2	60.46±12.3	68.3±18.4	79.52±9.1
Pomada al 30% de extracto fluido	1 gramo	0.82±0.08	47.64 ± 30.8	58.32 ± 21.5	64.52±27.5	69.28±25.6
Pomada al 30% de extracto blando	1 gramo	0.82 ± 0.08	27.1 ± 9.8	42.6 ± 9.9	50.62 ± 12.5	45.81±16.2
Control (+): TURBOGES IC® 1%	1 gramo	0.79±0.11	15.84± 7.3	25.54±21.7	27.08±26.1	16.19±8.5

Fuente: Resultados obtenidos por las autoras. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica

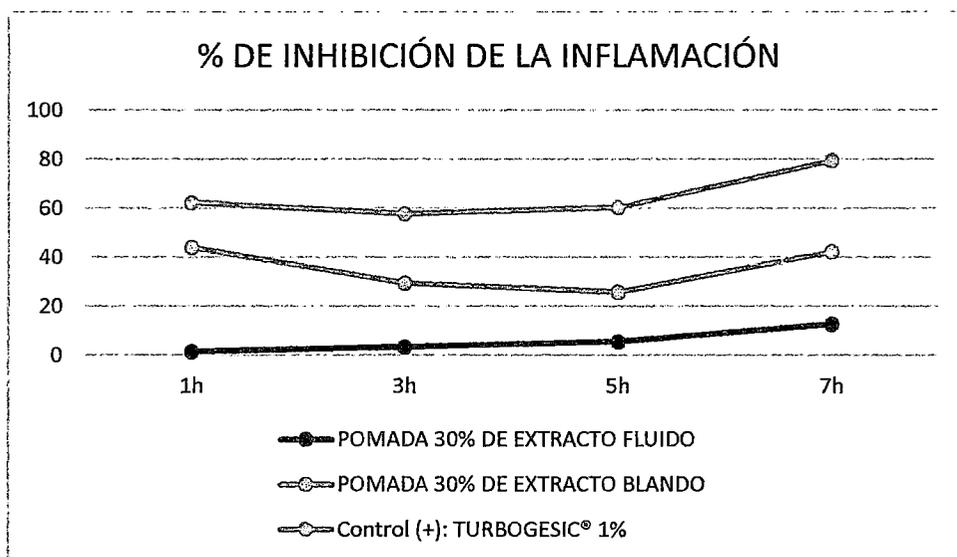


**Gráfico N°3.** Promedio del porcentaje de volumen de edema plantar en la evaluación del efecto antiinflamatorio de las pomadas elaboradas al 30%.

**Tabla N°4.** Porcentaje de inhibición de la inflamación en la evaluación del efecto antiinflamatorio del *Senecio nutans Schulz Bipontinus*.

GRUPO	DOSIS	% de inhibición de la inflamación en el tiempo			
		1h	3h	5h	7h
Pomada al 30% de extracto fluido	1 gramo	1.57	3.54	5.53	12.88
Pomada al 30% de extracto blando	1 gramo	44	29.54	25.89	42.39
Control (+): TURBOGESIC® 1%	1 gramo	62.27	57.75	60.35	79.64

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica.



**Gráfico N°4.** Porcentaje de inhibición de la inflamación en la evaluación del efecto antiinflamatorio del *Senecio nutans Schulz Bipontinus*.

**Cuadro N°5.** Ensayos físicos y químicos realizados a la pomada elaborada al 30% de extracto blando de la especie vegetal *Senecio nutans Schulz Bipontinus* “chocra”.

<b>ENSAYOS:</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>	<b>RESULTADOS</b>
Descripción inicial	Masa semisólida, de color verde oscuro y olor característico intenso	Cumple
<b>ENSAYOS FISICOQUÍMICOS INICIALES</b>		
Homogeneidad	Macroscópica	Uniforme
Tamaño de partícula	0,5 – 10 $\mu$	6.00 $\mu$
Consistencia	10-50 mm	30 $\pm$ 2.16 mm
Extensibilidad	No menos de 740 mm <sup>2</sup>	740.16 $\pm$ 0.09 mm <sup>2</sup>
pH	5.0 – 8.0	5,07
Índice de acidez:	Máximo; 3mg KOH/g	2,69 mg KOH/g % Ac. G. L. oléico: 1,35

Fuente: Resultados obtenidos por los autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica

**Cuadro N°6.** Análisis periódico como parte de los ensayos de estabilidad realizados a la pomada elaborada.

ENSAYOS:	ESPECIFICACIONES	2° SEMANA	4° SEMANA	6° SEMANA	8° SEMANA
<b>ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO PERIÓDICO</b>					
Aspecto	Consistente, homogéneo y uniforme				
Color	Verde oscuro				
Olor	Característico intenso	Característico intenso	Característico intenso	Característico intenso	Característico moderado
<b>OTROS INDICADORES DE ESTABILIDAD</b>					
Ph	5.0 - 8.0	5.11	4.97	5.04	4.95
Índice de acidez	2.702mg KOH/g	2.715mg KOH/g	2.683mg KOH/g	2.681mg KOH/g	2.693 mg KOH/g
Tamaño de partícula	0,5 - 10 $\mu$	6.2 $\mu$	4.9 $\mu$	5.8 $\mu$	5.8 $\mu$

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica

**Cuadro N°7.** Envejecimiento acelerado y reversibilidad como parte de los ensayos de estabilidad realizados a la pomada elaborada.

<b>ENSAYOS:</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>	<b>RESULTADO</b>
Reversibilidad	Presentar condiciones originales	Cumple
Estabilidad acelerada	Sin alteración del producto	Cumple

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica

**Cuadro N°8.** Examen microbiológico realizado a la pomada elaborada. En conformidad con las normas NF 32 publicadas por la USP 37. *Examen Microbiológico de Productos No Estériles: Criterios de Aceptación para Preparaciones Farmacéuticas y Sustancias de Uso Farmacéutico.*

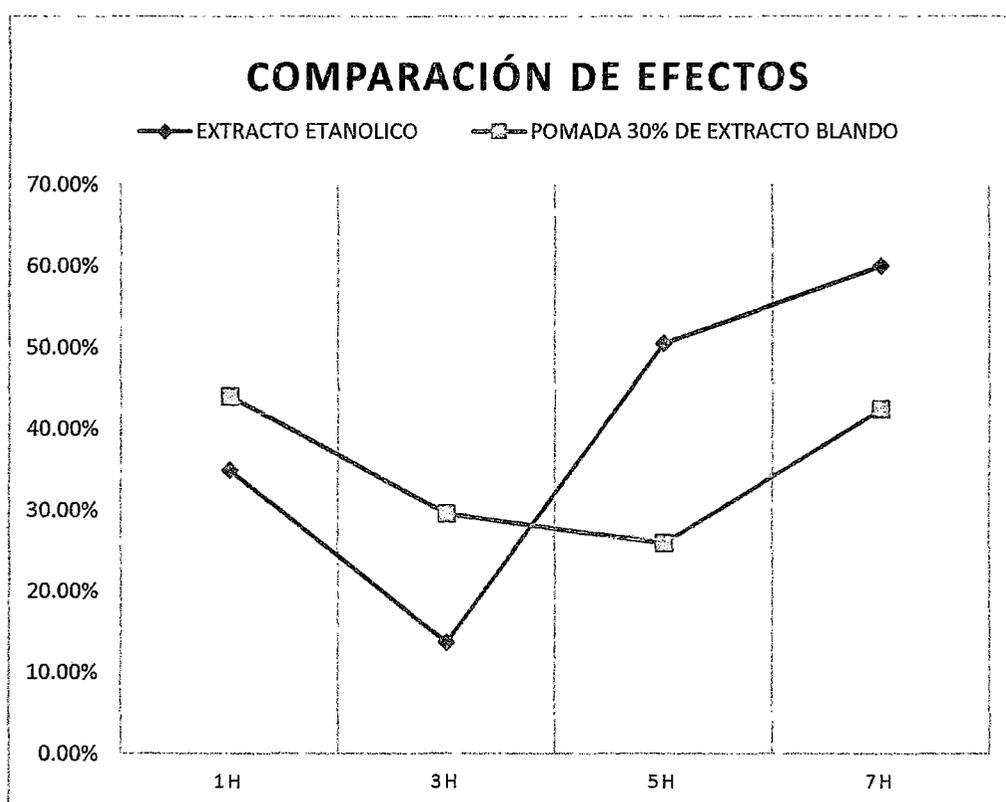
<b>MICROORGANISMOS</b>	<b>LÍMITE MICROBIOLÓGICO</b>	<b>RESULTADO</b>
<i>AEROBIOS TOTALES</i>	$10^2$ UFC/mL(MAC=200)	190 UFC/ml
<i>HONGOS Y LEVADURAS</i>	$10^1$ UFC/mL(MAC=20)	20 UFC/ml
<b>PATÓGENOS:</b>		
<i>Pseudomona aur. Y Staphylococcus aer.</i>	Ausencia (1g o 1ml)	Ausentes
<i>Escherichia Coli y Salmonella sp</i>	Ausencia (1g o 1ml)	Ausentes

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica. UNSLG de Ica

**Tabla N°5.** Promedios de porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto etanólico de la especie *Senecio nutans Sch. Bip.* y de la pomada elaborada al 30% del extracto blando de esta misma.

	1H	3H	5H	7H
EXTRACTO ETANÓLICO	34.93%	13.74%	50.47%	59.98%
POMADA 30% DE EXTRACTO BLANDO	44%	29.54%	25.89%	42.39%

Fuente: Resultados obtenidos por las autores. Facultad Farmacia y Bioquímica, UNSLG de Ica



**Gráfico N°5.** Promedios de porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto etanólico de la especie *Senecio nutans Sch. Bip.* y de la pomada elaborada al 30% del extracto blando de esta misma.

## V. DISCUSIÓN

Teniendo como referencia estudios previos, como la hepatotoxicidad en consumo crónico de alcaloides pirrolizidínicos, tanto en animales y células hepáticas humanas.<sup>[4]</sup> Nuestro trabajo decidió elaborar una forma farmacéutica semisólida; por ser el grupo más amplio dentro de las formulaciones de aplicación sobre la piel y diversas mucosas, a partir del extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans Schulz Bipontinus* "chocra" que mantenga efecto antiinflamatorio.

Para nuestro estudio, se procedió a la obtención del extracto por el método de maceración para evitar someterlo a cambios de temperatura. El solvente de extracción fue etanol de 96°, en base al rendimiento del estudio realizado anteriormente y por la presencia de agua que permite el paso favorable del disolvente al interior de las células. Del proceso de extracción resultaron 2 tipos de extracto, un extracto fluido etanólico y un extracto blando etanólico.

Mediante el Screening Fitoquímico realizado al extracto etanólico blando se identificó la presencia de Flavonoides, grupos aminos libres, triterpenos y esteroides, alcaloides, catequinas y grupos fenólicos libres.

En el estudio farmacológico se corrobora la actividad antiinflamatoria del extracto a una dosis de 300 mg/Kg (de acuerdo al considerable efecto antiinflamatorio obtenido en la evaluación farmacológica del estudio previo) para el cual se usó el método de edema plantar inducido por carragenina, obteniéndose como resultado que el extracto posee actividad antiinflamatoria

desde la primera fase de la inflamación, sin embargo un promedio de porcentaje de inflamación del 24.81% a las 7 horas, logra ser significativamente diferente respecto al control y por ende presenta un mayor porcentaje de inhibición de la inflamación de un 59,98% (Tabla N°2). Los resultados obtenidos difieren al del estudio que se tomó como referencia y podrían guardar relación con el origen distinto de la especie, pudiendo haber variaciones cualitativas y cuantitativas de los compuestos que le confieren la actividad antiinflamatoria. También cabe resaltar que la fase en la que se observó el mayor efecto antiinflamatorio esta mediada por las prostaglandinas, fundamentalmente PEG<sub>1</sub>, PEG<sub>2</sub> y PGF<sub>3</sub>. [3][37]

Los dos tipos de extracto obtenidos, fueron analizados de acuerdo a su naturaleza física. Los resultados en ambos extractos fueron aceptables a excepción del pH ácido, el cual posteriormente es mejorado en la formulación para su compatibilidad con el pH de la piel normal.

Posteriormente, en los resultados de la prueba de solubilidad realizada en los extractos del *Senecio nutans Schulz Bipontinus*, el extracto fluido se mostró muy soluble en alcohol de 96°, sin embargo, poco soluble en bencina y vaselina, mientras que el extracto blando también se mostró muy soluble en alcohol de 96° y soluble en vaselina. Esto podría ser debido a que el extracto de la especie vegetal *Senecio nutans Sch. Bip.* Contiene aceites esenciales, según estudios reportados, y estos aceites esenciales a su vez contienen terpenos liposolubles, que también son solubles en alcohol y bencina, pero debido al contenido de alcohol de 96 ° en el extracto fluido, la bencina y la vaselina tienen dificultad para solubilizar por su naturaleza apolar e hidrofóbica respectivamente.[49]

Así mismo se procedió a evaluar las características de diferentes formas farmacéuticas semisólidas de aplicación tópica que podrían utilizarse, tomando en consideración entre otros aspectos la compatibilidad y la estabilidad de los excipientes con el extracto. Se elaboraron 3 tipos de formas farmacéuticas semisólidas, todas al 10% de extracto; gel hidrófilo alcohólico al 10% [F1], crema hidrófila O/W al 10% [F2] y pomada hidrófoba (propriadamente dicha) con base de absorción al 10% [F3].

Se escogió probar con la formulación F1 debido a que ambos extractos presentaban muy buena solubilidad con el alcohol, esto podría deberse a la presencia de terpenos y otros compuestos, al igual que se esperaba una acción refrescante sobre la piel, que pueda reducir la quemazón producida en la inflamación. Se escogió probar con la formulación F2 ya que las gotitas oleosas de la preparación se sitúan dentro de la fase acuosa, se absorben rápidamente en la piel sin dejar rastro oleoso y la parte acuosa se evapora también generando un efecto refrescante. Y en última instancia se escoge probar con la formulación F3 debido a que combina la oclusividad de una base hidrocarburada y la acción emoliente de una base anhidra de absorción, la primera genera una película oleosa que permite mejorar el contacto del extracto con la superficie de la piel y así la segunda base y el extracto pueda absorberse. La base de absorción al igual que las demás formulaciones también produciría un efecto refrescante, por su capacidad de absorber aproximadamente un 35% de agua.

Luego de preparadas las formulaciones se observó incompatibilidad en el gel; el cual no se mostró uniforme presentando pigmentos verde oscuros del extracto. Esta disconformidad podría ser debido a la naturaleza de los extractos, que si bien son solubles en alcohol, los excipientes no permiten la incorporación completa de muchos de sus compuestos de naturaleza lipídica como los terpenos. Los excipientes de la pomada y la crema si se mostraron compatibles con los extractos y por lo tanto ambas formulaciones son preseleccionadas, sin embargo en el examen organoléptico de la sexta semana luego de la preparación se observa inestabilidad en la crema, por presencia de exudados, y a su vez no presentó uniformidad, ni homogeneidad.

Es por ello que se eligió elaborar como forma farmacéutica semisólida a la pomada hidrófoba (propriadamente dicha) con base de absorción.

Posteriormente se elaboraron dos formulaciones; una pomada a base de extracto blando etanólico y una pomada a base de extracto fluido etanólico, ambas a una concentración del 30% para obtener un apropiado efecto antiinflamatorio de acuerdo a los resultados en la determinación con el extracto blando etanólico y según la complejidad de la incorporación de ambos extractos en las bases correspondientes. Se resalta que se escoge probar con una pomada a base de extracto fluido debido a su fácil incorporación y por la frecuente elaboración de pomadas a base de este tipo de extracto de especie vegetal. Según los resultados de la evaluación del efecto antiinflamatorio realizado por el mismo método de edema plantar inducido por carragenina la pomada al 30% de extracto blando de *Senecio nutans Sch. Bip.* obtuvo mejores resultados siendo al

igual que la pomada al 30% de extracto fluido administrada a 1 gramo por animal de experimentación. La pomada elaborada a partir del extracto fluido no mostró efecto antiinflamatorio apropiado en ninguna de las fases, esta respuesta podría ser debida a los bajos niveles de concentración del extracto puro en su formulación debido a su contenido en alcohol u a otros factores ajenos que hicieron que el extracto, de naturaleza oleosa, le resulte ser mejor absorbido. El mejor efecto antiinflamatorio para la pomada elaborada a partir del extracto blando se presentó en la primera hora después de ser administrada la carragenina, sin embargo, obtuvo un promedio de porcentaje de inflamación del 27.1%, el cual no logró ser significativamente diferente respecto al control negativo y su mayor porcentaje de inhibición de la inflamación fue un 44% (Tabla N°3 y N°4). Estos resultados mostraron que podrían existir factores adicionales que hayan intervenido en la absorción del extracto por la piel, uno de ellos probablemente pueda ser la diferencia de pH entre el producto terminado y la piel seca de las ratas Holtzman, otro factor podría ser el tiempo que requiere en contacto con la piel, sin descartar algunas otras causas.

Por ello, luego de haber elegido a la pomada al 30% de extracto blando de *Senecio nutans Sch. Bip.* como la forma farmacéutica semisólida, con mejor estabilidad y compatibilidad con los excipientes y con mejor efecto antiinflamatorio de entre todas las formulaciones preparadas, se procedió al análisis fisicoquímico, análisis de estabilidad periódica y acelerada, finalizando con el examen microbiológico.

Primeramente fueron realizados ensayos fisicoquímicos iniciales al producto en el cual se determinó la homogeneidad macroscópica y microscópica, resultando uniforme, sin grumos y con un tamaño de partícula inicial de 6.00  $\mu$  adecuado para la superficie de la piel. <sup>[38][39]</sup> Uno de los parámetros reológicos evaluados fue la extensibilidad, la cual resultó adecuada debido a que la consistencia, otro parámetro reológico, fue de 30 mm y se encontraba dentro de rangos apropiados para las pomadas en general. El pH inicial fue de 5,07 adecuado para el pH de la piel, aunque éste suele variar dependiendo el tipo de piel, es por ello que el pH pudo haber intervenido en los resultados farmacológicos debido al pH mayor de 5 de los animales de experimentación. <sup>[50][51]</sup> El índice de acidez fue de 2,69 mg KOH/g, hallado gracias al porcentaje de ácidos grasos libres (de tipo oleico para la mayoría de los aceites) que generalmente se evalúa cuando el compuesto presenta lípidos saponificables, que pueden ser hidrolizados por bacterias u otros factores, sin embargo, fue evaluado con el objetivo de contar con un parámetro de pureza y estabilidad en el tiempo, aunque no haya sido confirmado la presencia de ácidos grasos libre en el extracto.

Los resultados obtenidos por el análisis fisicoquímico junto a la información relevante sobre las características más apropiadas para las pomadas, nos permitieron establecer las especificaciones del producto para posteriores controles de calidad.

En los ensayos de estabilidad, la pomada elaborada mantuvo sus características organolépticas y demás indicadores físicos, a excepción de la 8<sup>o</sup> semana en el cual el olor característico fue de intensidad moderada y el pH disminuyó a un

valor del 4,95. Esta variación de pH aunque puede indicar inestabilidad, no genera un problema debido a la existencia de pieles humanas con pH de hasta 4,5. [50][51]

En el examen microbiológico, la pomada elaborada al 30% de extracto blando presentó 190 UFC/mL de bacterias aerobias totales, 20 UFC/mL de hongos y levaduras y patógenos ausentes, encontrándose dentro de los límites microbiológicos en conformidad con los criterios de aceptación de las normas NF 32 publicadas por la USP 37. El *Examen Microbiológico de Productos No Estériles: Criterios de Aceptación para Preparaciones Farmacéuticas y Sustancias de Uso Farmacéutico*. Estos resultados demuestran que el producto no genera riesgo de contaminación durante su uso.

Al final, se realizó la comparación de la actividad antiinflamatoria del *Senecio nutans Sch. Bip.* como extracto y como parte de una forma farmacéutica semisólida elaborada, resultando el extracto etanólico con un 59.98 % a las 7 horas mayor que el producto terminado, esto nos indica que la actividad antiinflamatoria de la especie podría tener mucha relación con la vía de administración u otros factores.

## VI. CONCLUSIONES

- 1.- Se obtuvo el extracto etanólico con un rendimiento del 52%. Se identificaron los siguientes metabolitos secundarios: flavonoides, grupos aminos libres, triterpenos y esteroides, alcaloides, catequinas y grupos fenólicos libres.
- 2.- El extracto etanólico presentó efecto antiinflamatorio a una dosis de 300 mg/Kg con un promedio de inhibición de la inflamación del 59.98% en el modelo de edema plantar en ratas.
- 3.- Se elaboraron dos tipos de pomadas; pomada al 30% de extracto blando etanólico de *Senecio nutans Sch. Bip* y pomada al 30% de extracto fluido etanólico de *Senecio nutans Sch. Bip*. presentando mayor compatibilidad y estabilidad en su formulación.
- 4.- La pomada elaborada al 30% de extracto blando etanólico de *Senecio nutans Sch. Bip*. a dosis de 1g por rata, obtuvo un 44% de efecto antiinflamatorio en el modelo de edema plantar en ratas, mayor al efecto observado en la pomada al 30% de extracto fluido etanólico de *Senecio nutans Sch. Bip*.
- 5.- La pomada elegida cumplió con todas las especificaciones físicas, químicas y criterios de aceptación microbiológicos.
- 6.- El *Senecio nutans Sch. Bip*. incorporado en la forma farmacéutica semisólida tópica elaborada, mantiene la actividad antiinflamatoria en menor intensidad que como extracto.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Emplear la formulación diseñada en estudios clínicos posteriores para determinar su utilidad en el tratamiento de la inflamación aguda.
2. Promover el uso de productos farmacéuticos a base de ingredientes naturales.
3. Se sugiere presentar nuevas formas farmacéuticas y poder verificar si estas son buen vehículo de acción en el efecto antiinflamatorio.
4. Se recomienda el uso de las plantas no solamente para la alimentación sino también para combatir y prevenir posibles afecciones a la salud, ya que estas poseen propiedades que no son aprovechadas.
5. Se recomienda elaborar un fitofármaco distinto al propuesto en esta investigación, tratando de potenciar la actividad antiinflamatoria, ya se aumentando la dosis propuesta en esta investigación.
6. Se recomienda realizar estudios toxicológicos a la especie *Senecio nutans Schulz Bipontinus*.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hoyos Vargas MK, Yep Chu MY. Diseño de una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* (Chilca), con efecto antiinflamatorio. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, Lima – Perú.2008.
2. Revatta Salas L, Ferreyra Paredes C, Herrera Poleris S, Chávez Orellana H, Molina Cabrera A, Ramos Gamarra R. Actividad antiinflamatoria de los extractos etanólico y acuoso de *Chuquiraga Spinosa Lessing sub sp.* “huamanpinta Ezcurra”. Proyecto de investigación docente. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNSLG, Ica – Perú.2009 – 2010.
3. Gómez Estrada H, González Ruiz K y Medina J. Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 2011, 10(3): 182 – 217.
4. Bernaola Novoa CF, Sayritupac Huamaní FA, Velezmoro Montes RK. Evaluación de la actividad antiinflamatoria y elucidación estructural del o los alcaloides presentes en las hojas de *Senecio nutans Schulz Bipontinus* “chocra.”Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNSLG. Ica – Perú. 2009.
5. Fei D.Q., Zhang Z.X., Chen J.J., Gao K. Eremophilane-type sesquiterpenes from *Senecio nemorensis*. Planta Medicinal, China. 2007 Oct;73(12):1292-7.

6. El-Hamd H Mohamed A, Ahmed A.A. Eremophilane-type sesquiterpenes derivatives from *Senecio aegyptius var. discoideus*. Journal Natural Products, Egypt.2005 Mar; 68(3):439-42.
7. Tundis R, Loizzo M.R., Statti G.A., Houghton P.J., Miljkovic-Brake A., Menichini F. In vitro hypoglycemic and antimicrobial activities of *Senecio leucanthemifolius Poiret*. Nat Prod Res, Italy. 2007 May; 21(5):396-400.
8. Conforti F., Loizzo M.R., Statti G.A., Houghton P.J., Menichini F. Biological properties of different extracts of two *Senecio* species. Int J. Food Sci Nutr, Italy. 2006 Feb-Mar; 57(1-2):1-8.
9. Loizzo M.R., Statti G.A., Tundis R., Conforti F., Bonesi M., Autelitano G., Houghton P.J., Miljkovic-Brake A., Menichini F. Antibacterial and antifungal activity of *Senecio inaequidens D.C.* and *Senecio vulgaris L.* Phytother Res, Italy. 2004 Sep; 18(9): 777-9.
10. Loizzo M.R., Tundis R., Statti G.A., Miljkovic-Brake A., Menichini F., Houghton P.J. Bioactive extracts from *Senecio samnitum Huet*. Nat Prod Res, Italy. 2006 Mar; 20(3):265-9.
11. Conforti F., Marrelli M., Statti G.A., Menichini F. Antioxidant and cytotoxic activities of methanolic extract and fractions from *Senecio gibbosus sub sp. Gibbosus (GUSS) DC.* Nat Prod Res, Italy. 2006 Jul 20; 20(9):805-12.
12. Wiedenfeld H., Montes C., Tawil B., Contin A., Wynsma R., Pyrrolizidine alkaloid level in *Senecio bicolor (Wilid) Tod, ssp. Cineraria (DC)* from middle Europe. Pharmazeutisches Institut der Universitat, Bonn, Germany. 2006 Jun; 61(6):559-61.

13. Perez, C., Agnese, A.M., Cabrera, J.L. The essential oil of *Senecio graveolens* (Compositae): chemical composition and antimicrobial activity tests. Journal of Ethnopharmacology. Vol.66, N°.1, pages 91-96(1999).
14. Neuman M.G., Jia A.Y., Steenkamp V. *Senecio latifolius* induces in vitro hepatocytotoxicity in a human cell line. Canada Journal Physiology Pharmacology. 2007 Nov: 85(11):1063-75.
15. Acuña E.J. Determinación de la actividad antiespasmódica de las hojas de *Senecio nutans Schulz Bipontinus* (chocra). Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad San Luis Gonzaga, Ica 2007.
16. Valdez Ortiz M. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Senecio graveolem* "Chachacoma" sobre cepas de *Streptococcus pneumoniae*. UNA. Puno-Perú. 2008.
17. Ochoa Pumaylle K., Paredes Quiroz L., Bejarano Luján D., Silvia Paz R., Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens Wedd* (Wiskataya). UNT. Perú. 2012, p.291-302.
18. Beltrán Santiago H, Galán De Mera A. *Senecio* [sect. *Senecio*] ser. *Lomincola nova* y notas cronológicas y taxonómicas sobre *Senecio* (Asteraceae) de los Andes centrales del Perú. *Botcomplutensis* 21:1996.p.99-111.
19. Araya-Presa Jorge, Squeo Francisco A. Manual de plantas y canciones Aymara. Universidad de la Serena. Chile. 2003.p.1-22
20. Guerra D. Tesis de aptitud profesional. Aislamiento y elucidación estructural de Flavonoides de *Baccharis genistelloides Pers* "Tres filos" "KinsaKuchu". UNMSM. Lima - Perú. 1995.

21. Prakash A., Pereira T., B.P. Reilly and Alan A. Seawright. Pyrrolizidine alkaloids in human diet National Research Centre for Environmental Toxicology and Department of Biochemistry, The University of Queensland, Australia. Volume 443, Issues 1-2, 15 July 1999, Pages 53-67.
22. Tundis R., Loizzo M.R., Statti G.A., Passalacqua N.G., Peruzzi L., Menichini F. Pyrrolizidine alkaloid profiles of the *Senecio cineraria* group (Asteraceae). Department of Pharmaceutical Sciences, University of Calabria, Italy. 2007 Jul-Aug; 62 (7-8):467-72.
23. Chen L.X., Ma H.Y., Zhang M., Zhang C.F., Wang Z.T. Studies on constituents in herb of *Senecio scandens*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, China. 2006 Nov; 31(22):1872-5.
24. Ndjoko K., Wolfender J.L., Röder E., Hostettmann K. Determination of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio* species by liquid chromatography/thermospray-mass spectrometry and liquid chromatography/nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Planta Medicinal*, Switzerland. 1999 Aug; 65(6):562-6.
25. Liang A.H., Ye Z.G. General situation of the toxicity researches on *Senecio*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, China. 2006 Jan; 31(2):93-7.
26. Arciniegas A., Pérez-Castorena A., Villaseñor J., Romo de Vivar A. Chemical Constituents of *Senecio procumbens*. *J. Mex. Chem. Soc.* 2005, 49(3), 284 -6.
27. Vrieling K., Derridj S., Pyrrolizidine alkaloids in and on the leaf surface of *Senecio jacobaea* L., *Phytochemistry* 64 (2003) 1223-1228.

- 28.** Schinnerl J., Brem B., Pui-Hay But P., Vajrodaya S., Hofer O., Greger H. Pyrrolo and pyridoazepine alkaloids as chemical markers in *Stemona* species *Phytochemistry* 68 (2007) 1417-1427.
- 29.** Abou El-Hamd H., Mohamed, and Ahmed A. Ahmed. Eremophilane-Type Sesquiterpene Derivatives from *Senecio aegyptius* var. *discoideus* 439 *J. Nat. Prod.* 2005, 68, 439-442.
- 30.** Macel M., Vrieling K., KlinKhamer P. Variation in pyrrolizidine alkaloid patterns of *Senecio jacobaea*, *Phytochemistry* 65 (2004) 865-873.
- 31.** Brack Egg. Antonio. Diccionario enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas. Cuzco 1999.
- 32.** Carretero Accame M. Plantas medicinales. *Panorama Actual Med* 2001. 25(241): 222-227.
- 33.** Flórez J., Armijo A., Mediavilla A. Mediadores Celulares, inflamación e inmunidad. *Farmacología Humana*. Ed. Masson, 3<sup>o</sup> Edición. Barcelona España. 2001. p. 305 – 306.
- 34.** Jiménez Estrada M., Reyes Chilpa R., Ramirez Apan T., Lledias Fernando, Hansberg Wilhem, Arrieta Daniel; et. al. *Journal of Ethnopharmacology* 105. México 2006:34-38.
- 35.** Pascuzzo C. Introducción a la Farmacología Autacoidea. *Farmacología Histaminérgica*. *Farmacología Básica*. 2008 .p. 217-226.
- 36.** Coleman, J.W. Nitric oxide in immunity and inflammation. *Journal of Immunopharmacol.* 2001; 1:1397-1406.

37. Laurence L. Brunton, Bruce A. Chabner, Bjorn C. Knollmann. Inflamación, inmunomodulación y hematopoyesis. En: Goodman & Gilman. Las bases Farmacológicas de la terapéutica. 12<sup>o</sup> Edición. California. 2011.
38. Helman J. Formas Farmacéuticas. Farmacotecnia teórica y práctica. México. Editorial Continental. 1982.
39. Genaro, A.; Farmacia Práctica Rémington, 20<sup>a</sup> ed. Editorial Panamericana, Argentina, 2003. p. 2427 -2429.
40. Aragadvay Yungán S. Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante y antiinflamatorio a base de chilca (*Bacharis latifolia*) y hierba mora (*Solanum nigrum*). Tesis para optar el título de bioquímico farmacéutico. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPC, Riobamba – Ecuador. 2009.
41. Vila Jato J. Formas Farmacéuticas: Formas Farmacéuticas de administración sobre la piel y las mucosas: En: Tecnología farmacéutica, volumen II: España. Editorial Síntesis. 2001.
42. Lock de Ugaz O., Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da. Edición. 1994.
43. CYTED. Manual de Técnicas de Investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Bogotá. 1995.
44. Coello Brito R. Elaboración y control de calidad de gel cicatrizante a base de sábila (*aloe vera*) y caléndula (*caléndula officinalis*). Tesis para optar el título de bioquímico farmacéutico. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPC, Riobamba – Ecuador. 2012.

45. The United States Pharmacopeia 37<sup>th</sup> Ed y the National Formulary 32<sup>th</sup> Ed. Trigésima Séptima Revisión y Trigésima Segunda edición. 2014 US Pharmacopoeia Convention. Port cityPress. Baltimore 2014.
46. Ajalcriña Laos R, Carrillo Cárdenas A. Formulación y preparación de pomada a partir del extracto etanólico de *piper arboreum* con actividad antiinflamatoria. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNSLG, Ica – Perú. 2001.
47. García O., Suarez Y. Desarrollo y optimización de una jalea de Piroxicam 0,5%. Rev Cubana Farm (Ciudad de la Habana). 2009. v.43 n.4.
48. Albarracin Patricia M., Colqui Fernanda G. Estudios de caracterización de aceites usados en frituras para ser utilizados en la obtención de jabón. UNT. Argentina. 2010. v.32. p.1-7.
49. Pérez, C.; Agnese, A.M.; Cabrera, J.L. The essential oil of *Senecio graveolens* (Compositae): Chemical composition and antimicrobial activity tests. Journal of Ethnopharmacology .1999, vol.66, nº1, p.91-96.
50. Tsai TF, Maibach H. Water: a possible skin irritant. Cosmetics and Toiletries. 2000; 115 (2):32-35.
51. Rockl H, Spier HW, Pascher G. Der Eun flubwasser los licher Bestandteile der Hornschicht auf Bakterien. Arch Klin Exper Dermatol. 1928; 205:420-34.

## **IX. ANEXOS**

## CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo que suscribe certifica que la muestra VEGETAL, traída por las señoritas: ROMERO CRUZ TERESA DE LOS SANTOS con DNI 70602725 y NÚÑEZ CÁRDENAS KATIA PILAR con DNI 70378040, corresponde a la especie conocida con el nombre técnico de *Senecio nutans schulz bipontinus*, "choera" "chachacoma", según clasificación sistemática de Arthur Cronquist 1993. Por tanto se extiende la presente certificación a pedido de las interesadas.

Reino: Plantae

División: Magnoliophytas

Clase: Magnoliopsidas

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: Senecio

Especie: *Senecio nutans schulz bipontinus*

N.V: "Chachacoma", "Chocra"

Ica, 15 de Noviembre del 2012



.....

Bigo, Mag David M Miranda Huamán

CBP N° 3681

OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS. *Senecio nutans* Sch. Bip. "Chocra".



Foto N°01. Recolección e identificación de la especie vegetal.



Foto N°02. Preparación y tratamiento de la especie vegetal



Foto N°04. Extracto blando etanólico.



Foto N°03. Extracto fluido etanólico.

ESTUDIO FITOQUÍMICO. *Senecio nutans* Sch. Bip. "Chocra".

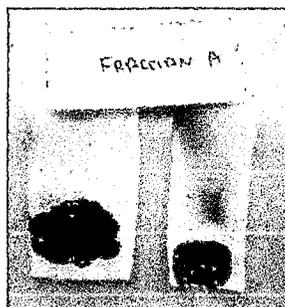


Foto N°05. Identificación de grupos aminos libres. Fracción A

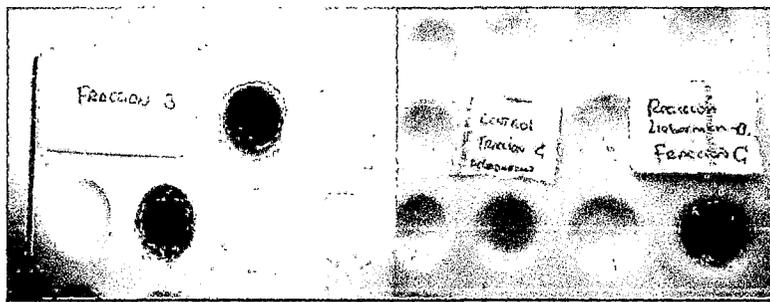


Foto N°06 y N°07. Identificación de Triterpenoides y/o Esteroides. Fracción B (izquierda) y Fracción C (derecha).

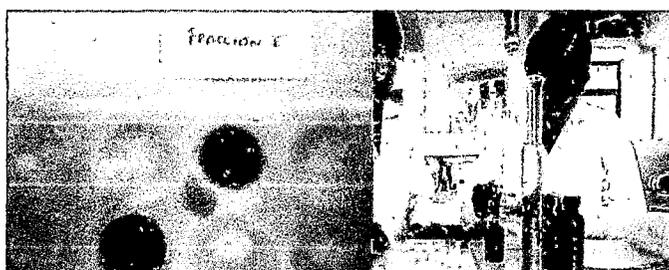


Foto N°08. Identificación de Flavonoides. Fracción E

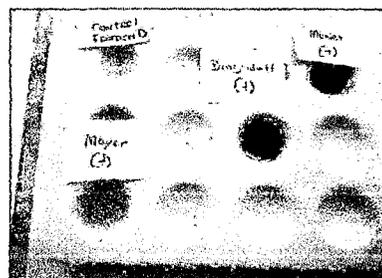


Foto N°09. Identificación de Alcaloides. Fracción D

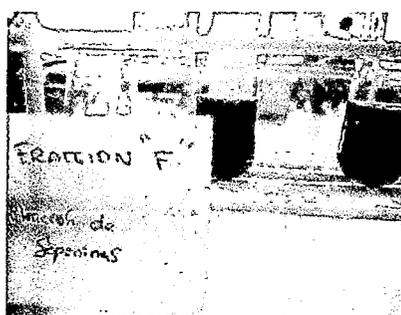


Foto N°10. Identificación de Saponinas. Fracción F

**ESTUDIO FARMACOLÓGICO. *Senecio nutans* Sch. Bip. "Chocra".**



FotoN°11. Materiales para la determinación del efecto antiinflamatorio



FotoN°12. Administración del control positivo. (Diclofenaco al 1% crema) en la aponeurosis plantar de la rata Holtzman.

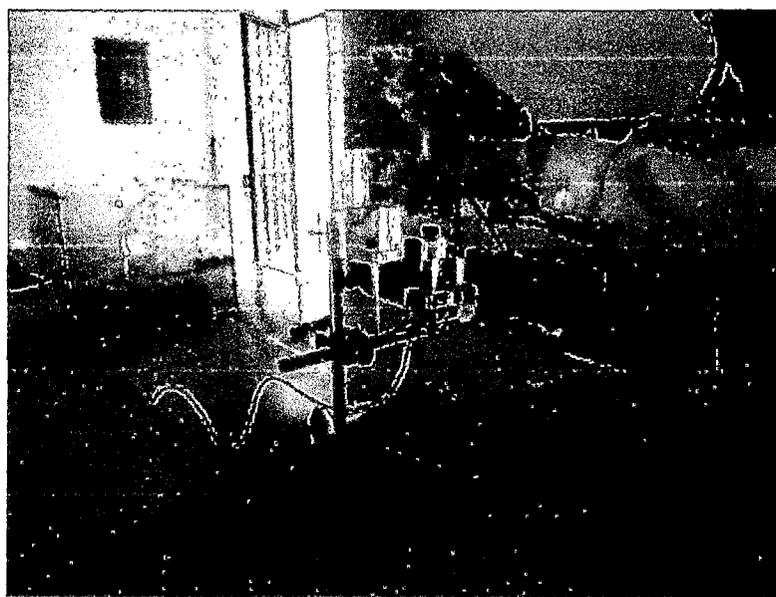


Foto N°13. Medida del volumen de edema plantar en el animal de experimentación, usando el equipo - Pletismómetro digital LE-7500.

**ESTUDIO FARMACOTÉCNICO Y EXAMEN MICROBIOLÓGICO. *Senecio nutans* Sch.  
Bip. "Chocra".**



Foto N°14. Elaboración de las pomadas al 30%. Pesado de los excipientes.



Foto N°15. Producto terminado en envase inmediato.



Foto N°16. Siembra de la muestra. Examen microbiológico al producto terminado



**UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA**  
**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



**"AÑO DE LA PROMOCIÓN DE LA INDUSTRIA RESPONSABLE Y DEL  
COMPROMISO CLIMÁTICO"**

La Dra. Haydeé Chávez Orellana, Docente Principal de la Cátedra de Química de Productos Naturales, Mg. Carmela Ferreyra Paredes, Docente Principal de la Cátedra de Farmacología y la Mg. Luisa Revatta Salas, Docente Principal de la Cátedra de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de Ica.

Certifican:

Que las señoritas Bachilleres: NÚÑEZ CÁRDENAS KATIA PILAR y ROMERO CRUZ TERESA DE LOS SANTOS; han culminado el proyecto de tesis titulada "ELABORACIÓN DE UNA FORMA FARMACÉUTICA SEMISÓLIDA CON ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA A PARTIR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Senecio nutans Schulz Bipontinus* "chocra" para optar el título profesional de Químico Farmacéutico por lo cual como asesoras de las mismas, autorizamos su presentación ya que reúne todos los requisitos de calidad necesarios para ser evaluados por el jurado correspondiente.

Se expide a solicitud de las interesadas para los fines que estime por conveniente a los diez días del mes de diciembre del año dos mil catorce.

Mg. CARMELA FERREYRA PAREDES

Mg. LUISA REVATTA SALAS

Dra. HAYDEÉ CHÁVEZ ORELLANA