UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS:

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y CICATRIZANTE DE UN GEL ELABORADO A PARTIR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec " Pirca"

TESIS:

PARA OPTAR EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR LOS BACHILLERES

GUTIERREZ HERNANDEZ, OSCAR GUSTAVO
RAMIREZ PALOMINO, MARITZA

ASESORES:

Dra. CHÁVEZ ORELLANA, HAYDEÉ
Dra. FERREYRA PAREDES, CARMELA
Dr. SURCO LAOS, FELIPE

ICA - PERÚ
2015

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y CICATRIZANTE DE UN GEL ELABORADO A PARTIR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE ***Paracalia jungioides*** (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca"

DEDICATORIA

A Dios: Porque fue el que medio la fuerza de seguir luchando cada vez que tenía problemas Siempre está a mi lado.

A mis padres: Ernesto y Graciela:

Por su esfuerzo, dedicación, consejos y su apoyo incondicional que me brindan cada día.

A mis hermanos Arturo y Gina:

Por su cariño, su atención y por todo el apoyo que me muestran siempre.

Oscar G. G. H.

DEDICATORIA

A Dios: Por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres: Cerilo y Dionicia

Por brindarme su amor, dedicación, por sus consejos, sus valores y por el apoyo incondicional en todo el trayecto de mi vida.

A mis hermanas: Karina y Betty

Porque siempre he contado con ellos para todo, gracias a la confianza que siempre nos hemos tenido. A mi sobrino Iker quien ha sido y es mi motivación, inspiración y felicidad.

Maritza R. P.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestros asesores:

A la **Dra. Chávez Orellana Haydeé, Dra. Ferreyra Paredes Carmela y al Dr. Surco Laos Felipe.**

Por su dedicación, paciencia, orientación y por impartirnos sus sabios conocimientos y darnos el apoyo necesario durante el periodo de este trabajo.

Un agradecimiento muy especial a la **Dra. Luisa Revatta Salas y al Mg. Alejandro Ovidio Maraví Villantoy** por brindarnos su apoyo incondicional durante el tiempo de este trabajo.

ÍNDICE

Pág.

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE 6

RESUMEN 8

ABSTRACT 9

I. INTRODUCCIÓN 10

II. ASPECTOS GENERALES 12

2.1. Aspectos botánico 13

2.1.1. Descripción botánica 13

2.1.2. Usos tradicionales 14

2.1.3. Clasificación taxonómica 14

2.2. Forma farmacéutica semisólida 15

2.2.1. Gel 15

2.2.1.1. Ventajas y desventajas 15

2.2.1.2. Características de un gel 15

2.2.1.3. Clasificación de los geles 16

2.3. Inflamación 19

2.3.1. Factores causales de la inflamación 20

2.3.2. Manifestaciones de la reacción inflamatoria 21

2.3.3. Fases de la inflamación 22

2.4. Cicatrización 24

2.4.1. Componentes principales de la cicatrización 26

2.4.2. Tipos de cicatrización 27

2.4.3. Fases de la cicatrización de herida 28

2.4.4. Factores que retardan la cicatrización 29

III. PARTE EXPERIMENTAL 30
3.1. Tipo de estudio 31
3.2. Materiales y reactivos 31
3.3. Metodología 32
3.3.1. Estudio fitoquímico 32
3.4. Elaboración del gel 39
3.5. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos 40
3.6. Actividad antiinflamatoria 43
3.7. Actividad cicatrizante 45
IV. RESULTADOS 47
4.1. Screening fitoquímico 48
4.2. Características organolépticas del gel 49
4.3. Parámetros fisicoquímicos del gel 49
4.4. Parámetros microbiológicos del gel 50
4.5. Evaluación de la actividad antiinflamatoria 50
4.6. Evaluación de la actividad cicatrizante 52
V. DISCUSIÓN 54
VI. CONCLUSIONES 58
VII. RECOMENDACIONES 60
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 62
IX. ANEXOS 68

RESUMEN

Las hojas de la especie *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec, conocida popularmente como "Pirca" por los pobladores del distrito de San Juan de Yánac provincia de Chincha departamento de Ica, es utilizada en forma de emplasto para aliviar problemas antiinflamatorios y cicatrizantes.

En el presente trabajo se elaboró un gel con actividad antiinflamatoria y cicatrizante a partir del extracto etanólico de las hojas de la especie *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca". Teniendo como base el extracto etanólico seco de las hojas de pirca, realizándose controles fisicoquímicos y microbiológicos que cumplieron con los parámetros establecidos según la farmacopea USP 37.

La actividad antiinflamatoria fue evaluada por el modelo experimental de edema auricular inducida por aceite de crotón, demostrándose que el gel elaborado a diferentes concentraciones presenta actividad antiinflamatoria; con porcentaje de inhibición de 41.75%, 61.16%, 74.56%, a concentración de 5%, 10%, 15% respectivamente. Se utilizó como patrón de comparación Diclofenaco gel 1% cuyo porcentaje de inhibición fue de 83.84%. Resultando el gel elaborado al 15% el más efectivo.

La actividad cicatrizante fue evaluada por el método tensiométrico (vaisberg y col) en ratones, se utilizaron geles a diferentes concentraciones 5%, 10%, 15%.

El gel de mayor efecto fue el 15% con un porcentaje de actividad cicatrizante de 95,53% y el control positivo cicatricure con 93,55 %.

El gel al 15% demostró ser significativamente mayor que el producto farmacéutico (cicatricure), con el cual fue comparado.

Palabras claves: *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec, actividad antiinflamatoria, actividad cicatrizante y gel.

ABSTRACT

The leaves of the species *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec, popularly known as "Pirca". The inhabitants of the district of San Juan de Yañac Chincha province department from ica, is shaped utilized plaster relieving antiinflammatory and healing problems.

In this paper it was developed a gel With anti-inflammatory and healing activity of the ethanol extract from the leaves of the species *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca". by the dissolution method on the basis of dry ethanol extract of leaves pirca physicochemical and microbiological controls performed to meet the parameters set by the pharmacopoeia USP 37.

Antiinflammatory activity was evaluated by the experimental model of ear edema induced by croton oil, demonstrating that the gel prepared at different concentrations exhibits anti-inflammatory activity; Percent inhibition with from 41.75%, 61.16%, 74.56%, to concentration from 5%, 10%, 15% respectively. It is used as a standard of comparison diclofenac 1% gel percentage of persons whose inhibition was 83.84 %.

Being the most effective concentration of the gel produced 15%.

Healing activity was evaluated by the tensiometric method (vaisber y col) in mice, gels were used at different concentrations 5% 10% 15%.

Greater effect gel was 15% with a percentage of 95.53 % healing activity and positive control cicatricure with 93.55 %

The 15% gel proved to be significantly higher than the pharmaceutical product (cicatricure) , with which it was compared.

keywords: *Paracalia Jungiodes* (hook & arn) Cuatrec, antiinflatoria activity, healing activity and gel.

INTRODUCCIÓN

En todos los países y en todos los sistemas de salud es frecuente el uso de plantas, la identificación del valor curativo es proporcionada por el saber tradicional que ha sido fuente para la investigación fitoquímica.[1] En la medicina tradicional se utilizan las plantas para el tratamiento de diversas enfermedades con resultados positivos. Aunque el empleo de las drogas vegetales tiene una firme tradición y sus usos medicinales generalmente son conocidos por los pobladores, su uso en la terapéutica debe ser comprobada. [2,3]

Se requiere de estudios científicos que permitan validar su eficacia y algunas de las propiedades atribuidas por el uso popular así como sus limitaciones, a fin de ampliar responsablemente el campo de las drogas vegetales. [4,5]

Muchos pobladores no pueden acceder a los medicamentos debidos a sus costos elevados, y tomando en cuenta que el país posee una gran variedad de plantas medicinales, se hace necesario el estudio farmacológico de algunas de éstas, en especial aquellas a las cuales se les atribuye la propiedad antiinflamatoria y cicatrizante.[6, 7]

La inflamación es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas. Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio es la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor.[8]

La cicatrización, consiste en la formación de un tejido que viene hacer una masa formada por fibras conjuntivas que aparecen como fase final de la curación de una herida como proceso restaurador, puede producirse en forma normal o patológica. [9]

La especie *Paracalia Jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec, conocida como "Pirca", es utilizada popularmente por los pobladores del distrito de San Juan de Yánac, provincia de Chincha en el departamento de Ica como antiinflamatorio tópico y cicatrizante y al no registrase trabajos de formas farmacéutica a base de esta planta, se vio la necesidad de evaluar la actividad antiinflamatoria y cicatrizante a partir de un gel y determinar los parámetros fisicoquímicos; así como los ensayos microbiológicos y justificar con base científica el uso empírico y popular de esta planta ofreciendo una alternativa más dentro de la farmacoterapia.

II. ASPECTOS GENERALES

2.1. ASPECTOS BOTÁNICOS

2.1.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La especie vegetal *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca" pertenece a la familia Asteraceae. Es un arbusto de 1.5 – 2.5 metros de altura aproximadamente ramificada desde la base, sus hojas son alternas, su inflorescencia es un racimo simple y su flor es de color amarillo.

Figura N° 1 Planta de pirca

HÁBITAT

Paracalia Jungioides (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca", es una planta nativa del Perú que crece distribuido en las áreas cercanas a los cerros en el distrito de San Juan de Yánac, provincia de Chincha, departamento de Ica; éste se encuentra ubicado a una altitud de 2.159 msnm.

2.1.2. USOS TRADICIONALES

Las hojas de *Paracalia Jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca", es usada por los pobladores como emplasto para la actividad antiinflamatoria y cicatrizante.

2.1.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La muestra vegetal completa fue clasificada por: Dra. Betty Millan. En el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos como: *Paracalia Jungioides (Hook & Arn) Cuatrec.* Y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISIÓN: Magnoliophyta
CLASE: Magnoliopsida
ORDEN: Asterales
FAMILIA: Asteraceae
GÉNERO: Paracalia
ESPECIE: *Paracalia Jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec
Nombre vulgar: "Pirca"

2.2. FORMA FARMACÉUTICA SEMISÓLIDA

2.2.1. GEL

El gel es un sistema coloidal donde la fase continua es sólida y la dispersa es líquida, presenta una densidad similar a los líquidos, sin embargo se asemeja más a un sólido, tiene un amplio rango de humectación, por lo tanto su evaporación y la absorción de sus principios activos puede ser ampliamente manipulada, se aplican a la piel o a ciertas mucosas para fines protectores, terapéuticos o profilácticos.[10]

2.2.1.1. VENTAJAS

- Son bien tolerados
- Fácilmente lavables
- Producen frescor

2.2.1.2. DESVENTAJAS

- Incompatibilidad con numerosos principios activos
- Tendencia a la desecación
- Bajo poder de penetración (indicados para tratamientos superficiales)

2.2.1.3. CARACTERÍSTICAS DE UN GEL

- Tienen una consistencia semisólida o fluida
- Su aspecto puede ser transparente o turbio
- Presenta una estructura de tipo continua
- Comportamiento pseudoplástico
- El pH está 4,5 y 8

2.2.1.4. CLASIFICACIÓN DE LOS GELES

Los geles se clasifican:

a) **Dependiendo de su comportamiento frente al agua:**

- **Geles hidrófilos o hidrogeles:** Están formulados a base de agua, que constituye el componente mayoritario y es el responsable de la solubilización de los principios activos hidrosolubles, glicerol, propilenglicol u otros líquidos hidrófilos a los que se añade el agente gelificante apropiado.
- **Geles hidrófobos o lipogeles:** Se utilizan para el tratamiento de dermatitis crónica, por su acción emoliente y lubricante, son llamados también oleogeles y están constituidos por parafina líquida adicionada de polietileno o por aceites grasos, lo cual facilita la solubilización de principios activos liposolubles.[10]

b) **Según el número de fases en que están constituidos**

- **Geles monofásicos:** El medio líquido lo constituye una sola fase o líquidos miscibles; agua – alcohol; solución hidroalcohólica, aceite, etc.
- **Geles bifásicos:** Constituidos por dos fases líquidas inmiscibles, formándose una estructura transparente con propiedades semisólidas.[10]

c) **Clasificación de los geles por su viscosidad**

- Geles fluidos
- Geles semisólidos
- Geles sólidos

d) Clasificación de los geles por su estructura

- Geles elásticos
- Geles no elásticos

e) En función de la naturaleza de la fase interna

- **Orgánicos:**
  - Naturales: como la goma arábiga y la gelatina
  - Sintéticos: como la carboximetilcelulosa sódica e hidroxipropilcelulosa
- **Inorgánicos:**
  - Como el magna de bentonita

❖ **EXCIPIENTES**

Son sustancias auxiliares que ayudan a que el principio activo se formule de manera estable, eficaz y sobre todo segura para el paciente. Estos excipientes se pueden clasificar de varias maneras, pero lo más interesante es atendiendo a la función que realizan dentro del medicamento. A continuación nombraremos algunos excipientes de sustancias indispensables para formular un gel estable, seguro y eficaz. [9,11]

A. CARBOPOL

Es un polímero del ácido acrílico, de alto peso molecular y carácter aniónico.

Viscosidad: 40.000 – 60.000 centipoises

Características organolépticas: polvo blanco fino incoloro

Solubilidad: soluble en agua que tiene excelentes propiedades de suspensión, espesamiento y formación de geles

Principal uso y/o aplicación: se emplea como agente emulsificante, viscosante, suspensor y gelificante, en fórmulas como soluciones, suspensiones, cremas, geles y pomadas.

B. TRIETANOLAMINA (TEA)

Nombre sistemático: 2,2',2'' nitritotrietanol

Familia química: Derivado del óxido de etileno.

Nombre común: Trietanolamina.

Estado físico: Líquido.

Color: Líquido incoloro o amarillo pálido viscoso.

Olor: Tiene un ligero olor amoniacal.

Peso específico: 1,12 g/cc a 20°C

Temperatura de inflamación: 172,3 °C

Temperatura de descomposición: 269°C

Solubilidad: Miscible en agua y alcohol, soluble en cloroformo y ligeramente soluble en éter o benceno.

Principal uso y/o aplicación: Como emulsificante detergente y plastificante ya que absorbe fácilmente el agua. También se utiliza como ingrediente para balancear el pH en preparaciones cosméticas.

C. METIL PARABENO

Nombre sistemático: Metilparabeno hidroxibenzoato

Fórmula química: HO-C6H4-CO2CH3

Masa molecular: 152g/mol

Punto de fusión: 125 – 128°C

Características organolépticas: Polvo cristalino blanco, inodoro o con algún olor característico.

Solubilidad: Soluble en agua, alcohol, éter.

Descripción: Preservante

Dosis usada: De 1.000 a 4.000 ppm.

Principal uso y/o aplicación: Se utiliza para preservar los productos en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética.

D. PROPILENGLICOL

Nombre sistemático: Propano – 1,2 - diol

Fórmula química: $C_3H_8O_2$

Masa molecular: 76,09 g/mol

Punto de fusión: -59°C

Características organolépticas: Compuesto orgánico, incoloro, insípido e inodoro. Es un líquido viscoso aceitoso claro, higroscópico.

Solubilidad: Agua, acetona y cloroformo.

Descripción: Disolvente y humectante

Principal uso y/o aplicación: Se usa porque tiene la capacidad de retener agua, sin este producto puede perder agua y desestabilizarse.

2.3. INFLAMACIÓN

La inflamación es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas. [8]

2.3.1. FACTORES CAUSALES DE LA INFLAMACIÓN

Cualquier agente lesivo para el organismo puede desencadenar el proceso inflamatorio: Agentes físicos, químicos, biológicos, inmunológicos, etc.

- **Agentes biológicos:** Bacterias, virus, hongos; las células de mamíferos disponen de receptores que captan la presencia de microbios; entre los receptores más importantes están los receptores de tipo Toll, que detectan la presencia de bacterias, virus, hongos, y desencadenan vías de señalización que estimulan la producción de diferentes mediadores .
- **Agentes o condiciones que producen necrosis de los tejidos afectados:** Las células necróticas liberan moléculas que activan la respuesta inflamatoria, como ácido úrico, ADP o incluso ADN; entre estos agentes tenemos:
  - Agentes físicos: Radiaciones, frío, calor, rayos UV.
  - Agentes químicos: Venenos, toxinas.
  - Traumatismos y cuerpos extraños, que inducen inflamación por que dañan los tejidos (necrosis) o aportan microbios.
  - Alteraciones vasculares: Como por ejemplo las que producen isquemia.
- **Alteraciones inmunitarias:** Como por ejemplo las respuestas de hipersensibilidad o las autoinmunes; en estos casos es la propia respuesta inmunitaria la que induce la inflamación, que es la causa principal del daño tisular.

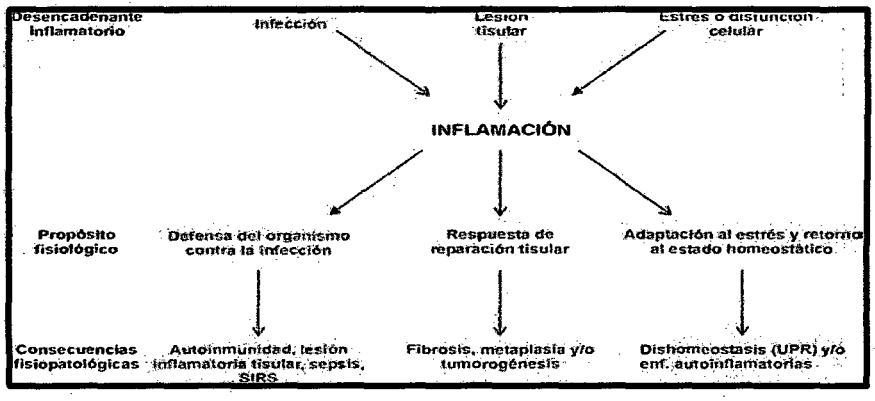


Figura N° 2. *La inflamación, aunque en principio representa un proceso universal e inespecífico encaminado a restaurar la homeostasis disturbada, puede elegir, según la causa desencadenante, diferentes escenarios de actuación para conseguir resultados determinados.* [12]

2.3.2. MANIFESTACIONES DE LA REACCIÓN INFLAMATORIA

Existen cinco principales efectos o signos cardinales de la inflamación aguda (los cuatro primeros fueron descritos por Paracelso hace más de 2000 años)

- **Rubor:** Enrojecimiento cutáneo progresivo, debido a una dilatación de los vasos (venas) de la zona afectada.
- **Calor o fiebre:** La fiebre es la manifestación general más común de la respuesta inflamatoria. La fiebre ocurre por una alteración del centro regulador de la temperatura a nivel del hipotálamo, la variación de la temperatura interna se transmite por el sistema nervioso mediante las oscilaciones de la temperatura sanguínea. En la inflamación se liberan interleucinas (IL-1) y factor de necrosis tumoral (TNF - pirógenos endógenos) que actúan sobre las neuronas del órgano vascular lo que produce la activación de la prostaglandina sintetasa (ciclooxigenasa) para la síntesis de prostaglandina E2. Este mediador se difunde hacia la región hipotalámica anterior (subcentro del calor) provoca aumento

de la temperatura y la liberación de citosinas que generan una respuesta autonómico, endocrina.

- **Tumefacción o tumor:** Aumento del tamaño debido a un cúmulo anormal de fluidos en los espacios extravasculares.
- **Dolor:** Debido a la compresión de líquido sobre las terminaciones nerviosas y a la irritación nerviosa directa facilitada por los mediadores de la inflamación como las prostaglandinas.
- Galeno añadió el quinto signo **"Pérdida de la funcionalidad".** [12,13]

2.3.3. FASES DE LA INFLAMACIÓN

La inflamación presenta dos fases bien diferenciadas aguda y crónica:

- **Fase aguda** cuyos signos distintivos son la vasodilatación local y el aumento de la permeabilidad capilar, tiene una duración de minutos, horas y pocos días su característica principal es la exudación de líquidos.
- **Fase crónica** tiene una duración mayor y se caracteriza histológicamente por la presencia de linfocitos y macrófagos.[13,14]

De forma esquemática podemos dividir la inflamación en cinco etapas:

1) Liberación de mediadores. Son moléculas, la mayor parte de ellas, de estructura elemental que son liberadas o sintetizadas por el mastocito bajo la actuación de determinados estímulos.
2) Efecto de los mediadores. Una vez liberadas, estas moléculas producen alteraciones vasculares y efectos quimio tácticos que favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.

3) Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio. Proceden en su mayor parte de la sangre, pero también de las zonas circundantes al foco.
4) Regulación del proceso inflamatorio. Como la mayor parte de las respuestas inmunes, el fenómeno inflamatorio también integra una serie de mecanismos inhibidores tendentes a finalizar o equilibrar el proceso.
5) Reparación. Fase constituida por fenómenos que van a determinar la reparación total o parcial de los tejidos dañados por el agente agresor o por la propia respuesta inflamatoria.[15,16]

❖ **MIGRACIÓN LEUCOCITARIA**

En la inflamación aguda se acumulan predominantemente los leucocitos, neutrófilos polimorfonucleados y en las fases tardías, los monocitos y macrófagos. Hay tres fases para el reclutamiento de las células en la región dañada: las modificaciones en el calibre de los vasos, las alteraciones en la estructura de la microvasculatura y la emigración de los leucocitos desde el punto en el que abandonan la microcirculación hasta el foco de lesión en el que se acumulan.

Normalmente las células ocupan la parte central del torrente sanguíneo teniendo muy poco contacto con el endotelio. Los leucocitos escapan del torrente circulatorio mediante un movimiento ameboideo 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 acumula 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.[9]

2.4. CICATRIZACIÓN

➢ CICATRIZ

La cicatriz como tejido restaurador, es una masa formada por tejido conjuntivo que aparece como fase final de la curación de una herida o proceso inflamatorio.[17]

➢ DEFINICIÓN

La cicatrización es un proceso natural que poseen la mayoría de vertebrados para regenerar los tejidos de la dermis y epidermis que han sufrido una herida. Cuando una persona posee una herida en el proceso de recuperación se llevan a cabo una serie de complejos fenómenos bioquímicos que suceden para reparar el daño. Si la cicatrización es lenta o la cicatriz es débil, demasiado fuerte o muy abundante, se considera que tanto el proceso de reparación (cicatrización) como su resultado (cicatriz) son anormales o patológicos.

En esencia el defecto y el exceso de este proceso de reparación, son las causas que producen las siguientes patologías de la cicatrización.[18]

➢ **RETRASO DE LA CICATRIZACIÓN:**

- **Cicatriz hipertrófica**

  Se define la cicatriz hipertrófica por ser predominante, eritematosa y pruriginosa, permaneciendo dentro de los confines de la cicatriz original. La cicatriz hipertrófica se produce por el aumento de todos los componentes del tejido cicatricial, esto es, células, colágeno, elastina y proteoglicanos.

  Las cicatrices hipertróficas son más frecuentes en heridas que curan por segunda intención, en heridas localizadas en zonas de la piel que están sometidas a tensión o movimiento.

- **Cicatriz queloide**

  Los queloides son lesiones de la piel formadas por crecimiento exagerado del tejido cicatrizal en el sitio de una lesión cutánea que pueden ser producidos por incisiones quirúrgicas, heridas traumáticas, sitios de vacunación, quemaduras, varicela, acné, radiación, piercings o incluso pequeñas lesiones o raspaduras. La mayoría de los queloides no se aplanan ni se hacen menos visibles con los años. Entre la cicatriz queloide y la hipertrófica, el queloide tiene la capacidad de extenderse en superficie, mientras que la hipertrófica se extiende en grosor, sin superar los límites de la lesión originaria.[16]

- **Cicatriz retráctil**

  El tratamiento de elección de una cicatriz retráctil o contráctil es una corrección quirúrgica de la cicatriz combinada con algún otro procedimiento quirúrgico como la aplicación de láser, de acuerdo a la localización, extensión y forma de la cicatriz. Las cicatrices contráctiles llevan a una restricción de los arcos de movilidad de las articulaciones involucradas y en los niños producen alteraciones del crecimiento de los huesos involucrados.[19]

➢ **EL RETRASO DE LA REPARACIÓN CICATRICIAL DE UNA HERIDA**

Produce una herida crónica. Aunque no hay acuerdo para definir el tiempo que se debe retrasar la cicatrización con el objeto de calificar a una herida como crónica, se puede considerar que en este grupo de cicatrices patológicas son incluidas todas las heridas que prolongan en exceso su curación.

2.4.1. COMPONENTES PRINCIPALES DE LA CICATRIZACIÓN

La cicatrización incluye 2 principales componentes: la regeneración y la reparación.

❖ **REGENERACIÓN**

Es la capacidad de las células para regenerarse, depende del tipo celular. Las células lábiles como células de piel, órganos linfoides, médula ósea y membranas mucosas del tracto digestivo, urinario y reproductor, se dividen constantemente, y la lesión a estos órganos tiene una rápida regeneración.

Las células estables retienen su capacidad para regenerarse, pero lo hacen solamente si él órgano está lesionado. Los ejemplos de células estables son: el hígado, el páncreas, los riñones y las células óseas.

Las células permanentes no se regeneran, ejemplo de estas son: neuronas y las células musculares cardíacas.

La cicatrización ocurre por reparación con un tejido de cicatrización.

❖ **REPARACIÓN**

La reparación es un proceso más complejo. La mayoría de las lesiones cicatrizan por la reparación del tejido conectivo.

La cicatrización por reparación ocurre por primera, segunda y tercera intención.[18]

2.4.2. TIPOS DE CICATRIZACIÓN

A. PRIMERA INTENCIÓN

Es el tipo de evolución que se observa en las heridas quirúrgicas, en las que no hay complicación, sus bordes son netos y limpios, y sanan menos de 15 días cuando los tejidos se aproximan por medio de fijación, suturas o telas adhesivas, entre otros.

Al aproximarse los bordes se reduce el espacio que debe cubrir la re- epitelización, luego de la aproximación de los bordes, la herida sigue las etapas clásicas de cicatrización.

B. SEGUNDA INTENCIÓN

También conocido como cierre por granulación. Se caracteriza por cierre espontaneo con fase proliferativa prolongada. Seguida de una fase de contracción y epitelización. Es decir no se aproxima los bordes de la herida. Su evolución toma más de 15 días para cerrar debido a que las fuerzas naturales de contracción son complejas y el epitelio debe cubrir mayor superficie. Cuando la herida es muy extensa la cicatrización por segunda intención puede llegar a tomar tiempos extremadamente prolongados. Este tipo de cierre se prefiere en heridas contaminadas y sucias cuya aproximación mediante suturas favorecería una posible infección.

C. TERCERA INTENCIÓN

La cicatrización por tercera intención se produce en los casos de dehiscencia de sutura o cuando no ha sido posible la sutura inmediata tras una lesión, y una vez iniciados los mecanismos destinados a formar la cicatriz, se opta por refrescar los bordes y practicar la sutura de la herida. Cuando se realiza correctamente (eliminando los tejidos inflamados, las zonas sospechosas de contaminación bacteriana, refrescando los bordes apropiadamente, etc.), los tiempos de curación se acortan y la calidad de la cicatriz final mejora ostensiblemente.[20]

2.4.3. FASES DE LA CICATRIZACIÓN DE HERIDA

Hay tres fases en el proceso de cicatrización: la fase inflamatoria, la fase proliferativa, y la fase de remodelación o de maduración.

A. LA FASE INFLAMATORIA

Comienza inmediatamente tras la lesión y dura de 2 a 6 días. Durante ése tiempo el sangrado se detiene, los glóbulos blancos luchan contra la infección bacteriana, y comienza la formación de colágeno. El colágeno es el encargado de cerrar y "pegar" las heridas, y aquello de lo que están hechas las cicatrices. En esta fase, la herida generalmente está inflamada, y es roja, cálida y dolorosa.

B. LA FASE PROLIFERATIVA

En la segunda fase de la curación de la herida predomina la proliferación celular con el fin de alcanzar la reconstitución vascular y de volver a rellenar la zona defectuosa mediante el tejido granular. Esta fase comienza aproximadamente a partir del cuarto día desde que se

produjo la herida, las condiciones necesarias ya han sido previamente establecidas en la fase inflamatoria-exudativa: los fibroblastos ilesos de los tejidos colindantes pueden migrar al coágulo y a la retícula de fibrina que ha sido formados mediante la coagulación sanguínea y utilizarla como matriz provisoria, las citocinas, y los factores de crecimiento estimulan y regulan la migración y proliferación de las células encargadas de la reconstitución de tejidos y vasos.

C. LA FASE DE MADURACIÓN

Que ocupa un período que va de varias semanas a varios años. En esta fase se forma todavía más colágeno para reforzar las heridas. Luego se produce una "remodelación" de la cicatriz, eliminando el exceso de colágeno presente en la cicatriz. La remodelación es lo que hace que una cicatriz gruesa, roja y levantada se transforme en una fina, plana, y blanca, en un período que puede durar de meses a año.[21]

2.4.4. FACTORES QUE RETARDAN LA CICATRIZACIÓN

Factores de acción local: Infección, cuerpos extraños, hematomas, movilización, tensión de la herida por la sutura, edema, vascularización.[21,22]

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental de diseño cuasi experimental

3.2. MATERIALES Y REACTIVOS

- **Materiales de Laboratorio:**
  - ✓ Balones de 250 mL
  - ✓ Baguetas
  - ✓ Embudos de 100mL
  - ✓ Espátulas de metal
  - ✓ Gradillas
  - ✓ Pipetas de 0.5,1,10 mL
  - ✓ Pera de decantación
  - ✓ Placas de porcelana
  - ✓ Porta embudos
  - ✓ Pinzas metálicas
  - ✓ Propipetas
  - ✓ Probetas de 100, 500 mL
  - ✓ Tubos de ensayo
  - ✓ Vasos de precipitación de 50,100, 250 mL
- **Reactivos:**
  - ✓ Ácido Clorhídrico
  - ✓ Hidróxido de Amonio
  - ✓ Limaduras de Magnesio
  - ✓ Reactivo de Mayer
  - ✓ Reactivo de Hager

- ✓ Reactivo de Muniere
- ✓ Gelatina en polvo
- ✓ Tricloruro Férrico

❖ **Solventes:**

- ✓ Etanol 96°
- ✓ Diclorometano
- ✓ Agua destilada

❖ **Equipos:**

- ✓ Balanza analítica BOECO Germany
- ✓ Evaporador rotatorio

❖ **Material Biológico:**

- ✓ Hojas de *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca"

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. ESTUDIO FITOQUÍMICO

A. RECOLECCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA VEGETAL

Las hojas de *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca" fueron recolectadas en el distrito de San Juan de Yánac, provincia de Chincha, departamento de Ica; ubicada a una altitud de 2 159 msnm en el mes de Julio del 2014. Parte de la muestra fue enviada al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su clasificación taxonómica, posteriormente el secado de las hojas se llevó a cabo a temperatura ambiente bajo sombra en el laboratorio de productos

naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNICA.

B. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO

Se obtuvo el extracto etanólico de las hojas de *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca" por el método de maceración[6], durante un periodo de 7 -14 días agitando tres veces por día, una vez transcurrido el tiempo se efectuó un filtrado. El macerado obtenido fue concentrado a presión reducida, utilizando un evaporador rotatorio con temperaturas que oscilan de 45 a 50°c y a revoluciones que van de 60 - 120 rpm, hasta obtener extracto seco.

C. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Consiste en el fraccionamiento de un extracto vegetal utilizando solventes apropiados y en la aplicación de reacciones de coloración y/o precipitación para poder identificar la presencia de metabolitos secundarios como se indica en el fluxograma siguiente. [23, 24,25]

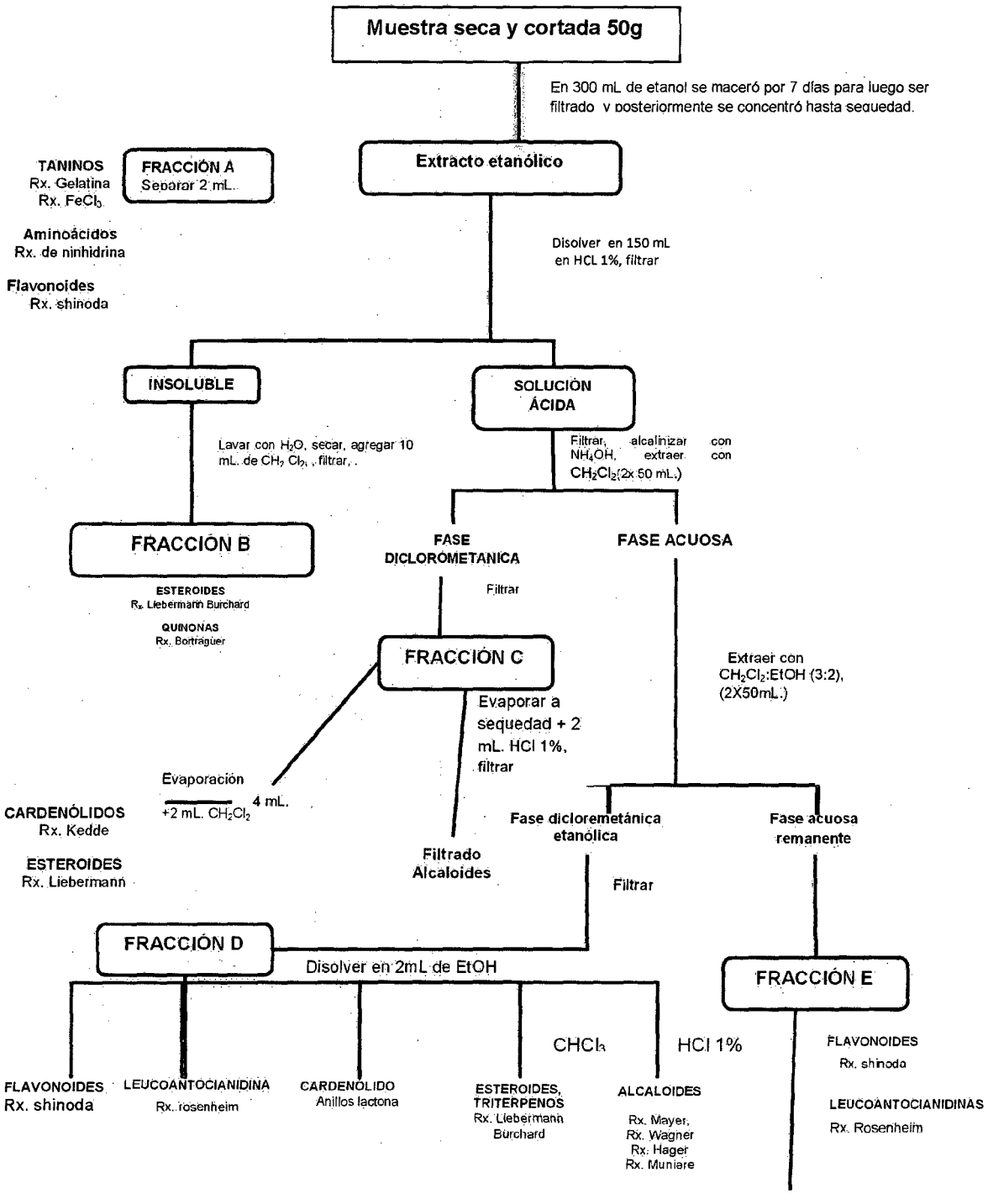


Figura N° 3. Fluxograma para screening fitoquímico

D. OBTENCIÓN DE FRACCIONES

50 g de vegetal seco y fraccionado de las hojas de Pirca, fueron macerados en 300 mL de etanol de 96° por 7 días, a este filtrado se llamó ***Fracción A***, de la cual se separó 2 mL, para efectuar reacciones de identificación. El resto se concentró a sequedad y presión reducida en un evaporador rotatorio marca HEIDOLPH a una temperatura de 45° C.

El extracto seco se extrajo con 150mL de HCl al 1%, se filtró y se obtuvieron dos partes:

Parte Insoluble: Se lavó hasta pH neutro con agua destilada, seguidamente se disolvió con 10mL de diclorometano y se filtró, lo que constituye la ***Fracción B.***

Solución Ácida: Se filtró y alcalinizó con hidróxido de amonio, extrayéndose con diclorometano (2 x 50mL) obteniéndose dos fases:

Fase Diclorometánica: Se filtró obteniéndose la ***Fracción C.***

Fase Acuosa: Se extrajo con diclorometano: etanol (3:2) (2 x 50mL). Obteniéndose dos fases:

- **Fase Orgánica:** (Diclometanica - etanólica). Se filtra y esto constituye la ***Fracción D.***
- **Fase Acuosa:** A esta se adiciona los residuos acuosos obtenidos del lavado de la fase orgánica esto constituye la ***Fracción E.***

  Por otro lado se mezcló 1g de droga seca con 20mL de agua y se agitó. Se dejó hervir durante 15 minutos. Luego se filtró en caliente hasta completar a volumen (10 mL) a través del filtro, se dejó enfriar a temperatura ambiente constituyendo la ***Fracción F.***

MÉTODOS DE ANÁLISIS: DETECCIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES Y METABOLITOS SECUNDARIOS.

Separadas las fracciones se procedió a realizar sobre estas reacciones de coloración o precipitación para identificar grupos funcionales y metabolitos secundarios.[25,26]

FRACCIÓN A

DETECCIÓN DE TANINOS:

- **Reacción de Gelatina- sal**.- Se toman tres tubos de ensayo a los que se adiciona 0.5mL del extracto(disuelto en agua) al 1° tubo se adiciona 1mL de NaCl 5%, al 2° gelatina 1% y al 3° gelatina-sal la precipitación con este último reactivo o con ambos el 1° y 2° es indicativo de la presencia de taninos, si solamente ocurre con el 1°, podría ser un falso positivo.
- **Reacción de Cloruro Férrico**.- En un tubo de ensayo se colocó 0.5 mL de la Fracción A y se le agregó una gota de solución acuosa de $FeCl_3$ 1%.

  La reacción es positiva cuando aparecen colores azul-negro, verde o azul verdoso.

DETECCIÓN DE AMINOÁCIDOS:

- **Reacción de Ninhidrina**.- Sobre tiras de papel de filtro se colocó con una pipeta capilar:

  a) Una gota de Fracción A + una gota del reactivo Ninhidrina al 2%.

  b) Blanco: Solución etanólica de Ninhidrina al 2%

  Luego del secado a temperatura ambiente las tiras de papel se colocaron en una plancha calefactora hasta la aparición de un color en el blanco.

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

- **DETECCIÓN DE FLAVONOIDES:**

  Reacción de Shinoda.- En una placa se vertieron 5 gts, de la Fracción A, 5 limaduras de Mg y 3gts de HCl concentrado. La reacción es positiva cuando aparecen tonos de color rojo, anaranjado y violeta.

FRACCIÓN B

- **DETECCIÓN DE TRITERPENOIDES Y/O ESTEROIDES:**

  Reacción de Liebermann Burchard: Sobre 1 mL de la fracción B se vertieron 5 gts de ácido acético y 3 mL de anhídrido acético/ácido sulfúrico (50:1).

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

- **DETECCIÓN DE ANTRAQUINONAS:**

  Reacción de Bornträger.- Sobre el resto de la Fracción B se agregó 5 mL de NaOH 5% y se agitó suavemente. La reacción es positiva si la fase acuosa toma un color rojo.

FRACCIÓN C

- **DETECCIÓN DE TRITERPENOIDES Y/O ESTEROIDES:**

  Reacción de Liebermann Burchard

- **DETECCIÓN DE ALCALOIDES:**

  El resto de la Fracción C se evaporó a sequedad y luego se agregó 2mL de HCl 1%, filtrándose. Se realizó la reacción de precipitación, de Dragendorff, Mayer, Hager, Wagner. La reacción es positiva si aparece un precipitado.

FRACCIÓN D

- Se evaporó a sequedad y luego se agregó 2.5 mL de etanol, efectuándose las siguientes reacciones:
- **DETECCIÓN DE FLAVONOIDES:**

Reacción de Shinoda

- **DETECCIÓN DE LEUCOANTOCIANIDINAS Y CATEQUINAS:**
  - **Reacción de Rosenheim**.- A 0.2 mL de la Fracción D se agregó 0.1 mL de HCl concentrado, se calentó durante 10 minutos a 100ºC. Enfriar, luego se adiciona 2 mL de agua y 0.5 mL de alcohol amílico, agitándose y observando el color en la fase amílica. La reacción se considera positiva si aparece un color que va desde el rosado débil hasta carmesí oscuro.

    Si es rojo indica presencia de antocianinas. Si es marrón indica presencia de catequinas.

FRACCIÓN E

- **DETECCIÓN DE FLAVONOIDES:**

  Reacción de Shinoda

- **DETECCIÓN DE LEUCOANTOCIANIDINAS:**

  Reacción de Rosenheim

FRACCIÓN F

- **DETECCIÓN DE SAPONINAS:**

  Prueba de espuma.- En dos tubos de ensayo se agitan 2.5 mL del extracto por un minuto. Se dejó reposar 15 minutos y se observó la formación de espuma. Se considera negativa la reacción si la altura de la espuma es menor de 5 mm.

3.4. ELABORACIÓN DEL GEL

A. Materia prima:

Extracto etanólico de las hojas de ***Paracalia jungioides*** (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca".

B. Excipientes:

- ❖ Trietanolamina (TEA)
- ❖ Propilenglicol
- ❖ Carbopol 940
- ❖ Metilparabeno
- ❖ Agua destilada

C. Equipos:

- ❖ Plancha calefactora
- ❖ Balanza analítica
- ❖ Ultrasonido

D. Otros:

- ❖ Papel filtro
- ❖ Material de porcelana, metal y vidrio de laboratorio.

PRE FORMULACIÓN

Se realizaron diversos ensayos hasta lograr las formulaciones adecuadas, el primer ensayo fue hallar la solubilidad con diversos solventes, posteriormente se realizaron varias formulaciones con distintos procedimientos hasta obtener el gel en diferentes concentraciones. [27,28]

ENSAYOS DE SOLUBILIDAD

En tubos de ensayo se colocó 50mg del extracto y se agregó 2mL del solvente respectivo luego se llevó al ultrasonido para homogenizar y observar con cuál de los solventes era soluble.[27, 28]

FORMULACIÓN DEL GEL

- Trietanolamina (TEA)
- Propilenglicol
- Carbopol 940
- Metilparabeno
- Agua destilada

Extracto etanólico de las hojas de ***Paracalia jungioides*** 5, 10,15% y gel base.

Se incorporó al gel base ya formulado el principio activo (extracto etanólico de las hojas de *Paracalia jungioides)* en concentraciones 5, 10 y 15%.

3.5. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICO

Tiene como propósito determinar si una forma farmacéutica posee los atributos de calidad previamente establecidos. Estos atributos buscan poder conseguir en último término que el medicamento cumpla con el objetivo para el cual se ha diseñado de manera segura y eficaz. [29]

- **Materiales**

  - Gel elaborado a partir del extracto etanólico de las hojas de *Paracalia jungioides* al 5%, 10%, 15%
  - Agar Tripticasa Soya (TSA)
  - Agar Dextrosa Sabouraud

- **Equipos y materiales de vidrio:** Todo lo requeridos para la realización del trabajo.

PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

A. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS [30]

Se observó algunas características en el gel como: olor, color, aspecto.

B. ENSAYOS FÍSICOS [30]

- **HOMOGENEIDAD:**

  Se realizó mediante la observación visual, manual de una capa delgada del gel extendida sobre una superficie plana a fin de examinar la uniformidad.

- **pH**:

  Se calibro el pH - metro digital con dos soluciones buffer de pH 4 y 7, luego se lavan con agua destilada.

  Se pesó 1g de gel y se homogenizó con 10mL de agua destilada en un vaso de precipitación donde se colocaron los electrodos para medir el pH correspondiente.

- **EXTENSIBILIDAD:**

  Es la capacidad del preparado para ser aplicado y distribuido en forma uniforme sobre la piel, el ensayo tiene como base el aumento de superficie del preparado al ser presionado entre placas de vidrio sobre las que se coloca una pesa de 100 g durante un minuto.

- **VISCOSIDAD:**

  Se tomó una muestra representativa del gel y se introdujo en el viscosímetro, sometiéndolo a la acción de la temperatura del baño maría a 25°C y se tomó el

tiempo desde el punto de partida hasta la señal indicada en el viscosímetro.

C. ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS:

Este ensayo se basa en la transferencia de pequeñas cantidades de gel a tratar en medios de cultivo, específicos a temperatura de incubación adecuadas para evidenciar la presencia de crecimiento microbiano. Para ello se realizó diferentes ensayos microbiológicos como: [30]

- **RECUENTO TOTAL DE MICROORGANISMOS MESÓFILOS AEROBIOS**

  En un frasco de vidrio con 90mL de solución fosfato pH 7.2, se incorporó 10g de la muestra. Se sembró 1mL del producto diluido en placas Petri y se adicionó 20mL de TSA, previamente fundido y enfriado a 45°c. Mezclando con movimiento rotatorio y dejándolo solidificar e incubar durante 48 y 72 horas.

  Se contó el número de ufc/g de la muestra; si no se observa crecimiento se reporta menos de 10 ufc/g de muestra.

- **RECUENTO TOTAL COMBINADO DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS**

  Se realizó como indica el método anterior de recuento total de microorganismos mesófilos aerobios, utilizando Agar Dextrosa Sabouraud, y se incuba de 24-25°C por 5-7 días. [31]

3.6. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

- **Método:** Edema auricular inducido por aceite de crotón (croton tiglium L.)
- **Material biológico:** Ratones albinos
- **Fármacos y reactivos**
  - Aceite de crotón
  - Acetona
  - Voltaren® (Diclofenaco gel al 1%)
  - Halatal® (Pentobarbital)
- **Equipos:**
  - Balanza analítica HR-200
  - Secadora
- **Otros:**
  - Micropipeta automática (humapette) de10 a 100ul
  - Sacabocado
- **FUNDAMENTO**

  Se basa en la aplicación tópica del agente flogógeno (aceite de croton) el cual actúa como un irritante vascular en el pabellón auditivo del ratón con infiltración de leucocitos polimorfonucleares y edema intercelular produciendo una respuesta inflamatoria. [32]

  - **PREPARACIÓN DE ANIMALES**

    Se utilizaron 25 ratones machos albinos, agrupados en 5 grupos de 5 animales por cada grupo. Aproximadamente de 25-30g de peso en ayunas de 12 horas.

❖ DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

Se preparó una disolución al 5% de aceite de croton en acetona (vehículo). Para luego administrar 20 uL del agente irritante en la oreja derecha del ratón con una micropipeta automática (Humapette), depositando 10 uL en cada cara (externa e interna) del pabellón auricular, a la oreja izquierda sólo se aplicó el vehículo. El gel preparado en concentraciones de 5, 10 y 15 % se aplicó 25mg en cada cara de la oreja derecha inmediatamente después del aceite de croton, al igual que el control positivo: Diclofenaco gel al 1%, hasta cubrir toda la superficie de manera uniforme. Transcurrida cuatro horas después de la aplicación, se sacrificaron los ratones con sobredosis de pentobarbital y se procedió a cortar con un sacabocado porciones circulares de 7 mm de la oreja inflamada y no inflamada, pesándolas inmediatamente. La actividad antiinflamatoria se evaluó mediante las siguientes fórmulas. [33,34]

$$\text{Porcentaje de inflamación} = \frac{T \times 100}{ST} - 100$$

Donde **T** corresponde a la media de los pesos de las orejas tratadas y **ST** a la media de los pesos de las orejas sin tratar.

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde C es el valor medio del porcentaje de inflamación de los animales del grupo control y T es el de los animales del grupo problema.

3.7. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE

- **Método:**
  - Tensiométrico de Vaisberg y col
- **Material biológico**:
  - Ratones albinos
- **Fármacos y reactivos:**
  - Halatal® (Pentobarbital)
  - Cicatricure®
- **Equipos:**
  - Equipo de disección
  - Equipo de dinamómetro
- **Otros:**
  - Seda negra 6/0
  - Crema depiladora
- **FUNDAMENTO**:

  La actividad cicatrizante se determinó por el método Tensiométrico de Vaisberg y col. que se basa en la medida de la resistencia de la herida a la tensión; esta técnica consiste en el uso de agua para medir la fuerza de resistencia de la herida.[34]

➢ PREPARACIÓN DE ANIMALES

Se utilizaron 25 ratones machos agrupados en 5 grupos de 5 animales por cada grupo. Aproximadamente de 25-30g de peso.

❖ DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA.

Se depiló a los ratones en la región dorsal 24 horas antes, observando que no presenten irritaciones en la piel, luego fueron anestesiados con pentobarbital sódico, realizando un corte transversal de 1 cm de longitud con la ayuda de un bisturí, en el dorso a nivel de la cintura escapular. A continuación se juntaron los pliegues (labios de la herida); mediante un punto de sutura con seda negra 6/0 en la parte central; procediendo a la aplicación del gel que se repetirá cada 8 horas. Los ratones serán colocados en jaulas individuales para evitar que se lastimen entre ellos.

Después de 72 horas los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico, retirándole el punto de sutura; se colocó en el dinamómetro y se determinó la fuerza necesaria que permita abrir la herida. La actividad es expresada en porcentaje y se determina de la siguiente manera. [34,35,36]

$$\text{Actividad (\%)} = \frac{(Ft - Fe) \times 100}{Fe}$$

Dónde:

Ft = Fuerza para abrir la herida del animal tratado

Fe = Fuerza para abrir la herida del animal control

IV. RESULTADOS

TABLA N° 1:SCREENING FITOQUÍMICO

FRACCIÓN	REACCIÓN	METABOLITO SECUNDARIO	RESULTADO
FRACCIÓN A	Cloruro Férrico	Grupos fenólicos libres	+
	Gelatina	Taninos	+
	Shinoda	Flavonoides	+
	Ninhidrina	Grupos aminos libres	-
FRACCIÓN B	Liebermann	Triterpenos y/o esteroides	-
	Burchard		
	Borntrager	Quinonas	-
FRACCIÓN C	Dragendorf	Alcaloides	-
	Liebermann	Triterpenos y/o esteroides	-
	Burchard		
FRACCIÓN D	Rosenheim	Catequinas	+
	Liebermann	Triterpenos y/o esteroides	-
	Burchard		
	Shinoda	Flavonoides	+
	Dragendorf	Alcaloides	-
FRACCIÓN E	Shinoda	Flavonoides	+
	Rosenheim	Catequinas	+
FRACCIÓN F	Espuma	Saponinas	-

Fuente: *datos de los autores- Laboratorio de productos naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N.ICA*

(+) Positivo

(-) Negativo

TABLA N° 2: CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL GEL ELABORADO A PARTIR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca"

COLOR	OLOR	ASPECTO
Verde oscuro	Característico	Homogéneo

Fuente: *datos de los autores*

- *El color verde oscuro no presento una diferencia significativa a pesar de las diferentes concentraciones.*

TABLA N° 3: PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DEL GEL ELABORADO A PARTIR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca"

PARÁMETROS	RESULTADO
HOMOGENEIDAD	Uniforme
pH	4.8
	Limite (4 – 7)
EXTENSIBILIDAD	4.3 cm^2
	Límite hasta 4.5
VISCOSIDAD	54.57 (Centipoises)

Fuente: *datos de los autores*

TABLA N° 4: PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS DEL GEL ELABORADO A PARTIR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca"

ENSAYOS	RESULTADO	LÍMITE
❖ Recuento total de microorganismos mesófilos aerobios	Ausencia	$<10^3$ ufc/g
❖ Recuento total combinado de hongos filamentosos y levaduras	Ausencia	<100 ufc/g

- *No se observó ningún tipo de crecimiento microbiológico en el producto terminado. Es importante la determinación microbiológica porque es un parámetro de calidad que exigen las normas internacionales por las USP.*[32]

TABLA N° 5: DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN DE LOS DIFERENTES GRUPOS TRATADOS

Ratones	Peso de orejas tratadas(mg) ($\bar{x}$ ± D. E)	Peso de orejas sin tratar (mg) ($\bar{x}$ ± D. E)	% De Inflamación
Control (-)	17.9 ± 0.87	9.6 ± 0.86	86.45 ±1.16[a]
Control (+)	7.75 ± 0.42	6.8 ± 0.16	13.97±2.81[b]
Gel al 5%	10.18 ± 0.47	6.77 ± 0.32	50.36±1.47[c]
Gel al 10%	9.1 5 ± 0.24	6.85 ± 0.44	33.57±1.83[d]
Gel al 15%	9.21 ± 0.56	7.55 ± 0.13	21.99±4.30[e]

Los datos se expresan como porcentaje de inflamación ± Desviación Estándar, y se analizaron para establecer diferencia entre los grupos por el test de Kruskal Wallis donde todos los grupos presentan una diferencia

estadísticamente significativa. Los supra índices diferentes significan que hay diferencia estadísticamente significativa.

TABLA N° 6: DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN INFLAMATORIA DE LOS DIFERENTES GRUPOS TRATADOS

GRUPO	*% DE INFLAMACIÓN*	*% DE INHIBICIÓN INFLAMATORIA*
Control (-)	*86.45%*	------
Control (+)	*13.97%*	*83.84%*
Gel 5%	*50.36%*	*41.75%,*
Gel 10%	*33.57%*	*61.16%*
Gel 15%	*21.99%*	*74.56%*

Fuente: *datos de los autores- Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N.ICA*

- *Al observarse los valores de inhibición de la inflamación se observan diferencias apreciables en todos los tratamientos, siendo más activa la preparación del gel a 15% (74.56%), pero sin alcanzar la respuesta obtenida por el control positivo (83.84%).*

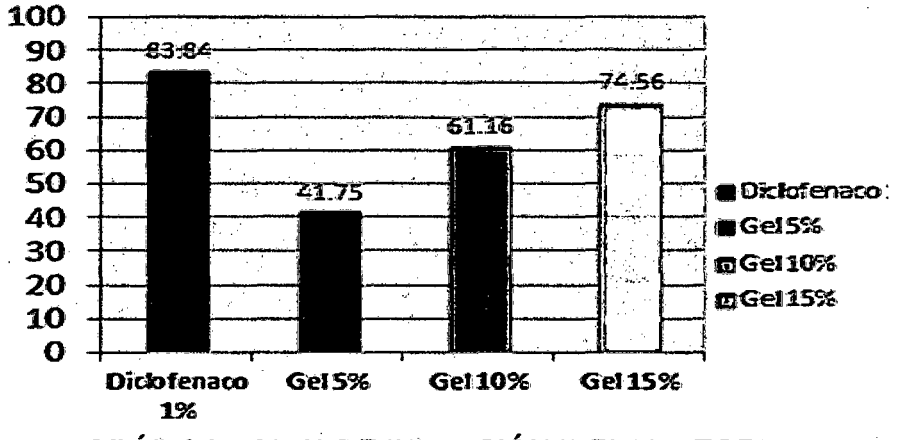


GRÁFICO N°1: % DE INHIBICIÓN INFLAMATORIA

TABLA N° 7: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS DIFERENTES GRUPOS TRATADOS

GRUPOS	PROMEDIO DE LOS mL GASTADOS ± D.E	(%) ACTIVIDAD CICATRIZANTE
CONTROL (-)	34,44 ± 3,52[a]	-
CONTROL (+)	66,66 ± 2,47[b]	93,55
5%	43,02 ± 2,47[c]	24,91
10%	52,3 ± 5,12[d]	51,86
15%	67,34 ± 3,17[b]	95,53

Fuente: datos de los autores- Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N.ICA

- *En la **tabla N°7** se observa los valores de resistencia donde se aprecia que por lo menos un par de grupos no presentan diferencia estadísticamente significativa en el tratamiento a una p<0,05 (Test de Kruskal Wallis), y se observó que en el grupo de 15% produjo mayores resistencia (67.34) que el grupo 10% (52.3), y el grupo 5% presentó*

menores valores (43.02). Esto se traduce en un porcentaje de actividad cicatrizante significativo de todos los grupos frente al control negativo. Sin embargo no se observó una diferencia estadísticamente significativa en la fuerza para abrir la herida entre el grupo 15% (67.34) y el control positivo (66.66) a un p<0,05 (Test Mann Whitney) lo que se vuelve en una actividad cicatrizante estadísticamente similar.

Los supra índices iguales significan que no hay una diferencia estadísticamente significativa.

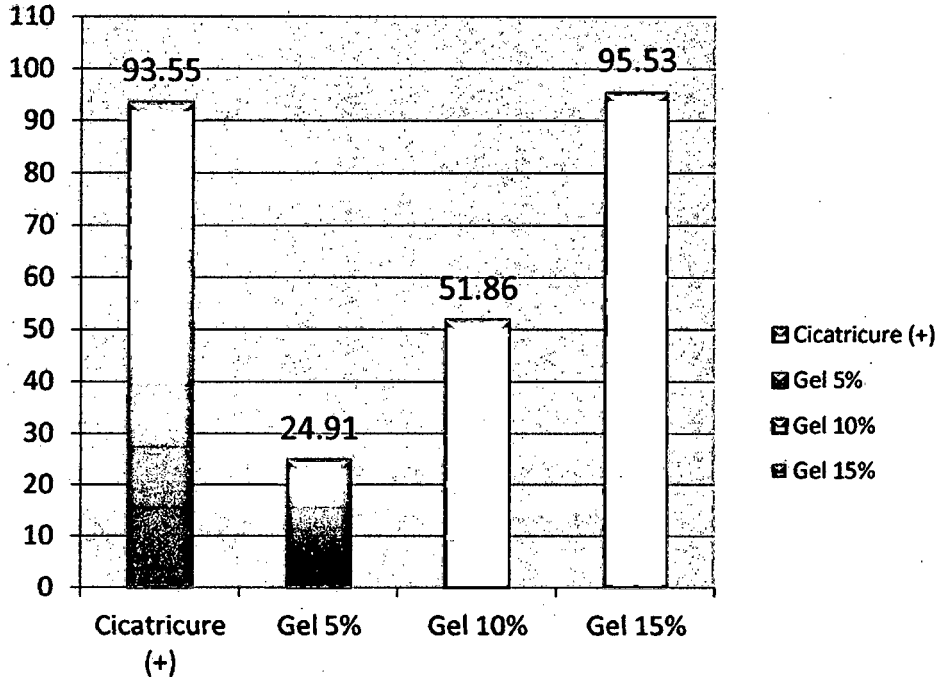


GRÁFICO N°2: % DE ACTIVIDAD CICATRIZANTE

V. DISCUSIÓN

La especie *Paracalia Jungioides* (Hook y Arn) Cuatrec, conocida como "Pirca", es utilizada popularmente por los pobladores del distrito de San Juan de Yánac, provincia de Chincha en el departamento de Ica como antiinflamatorio y cicatrizante.

Gutiérrez et al en el año 2013, realizaron un screening fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de pirca e identificaron los siguientes metabolitos secundarios: flavonoides, taninos, catequinas, grupos fenólicos y determinaron la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de pirca, con estos antecedentes vimos oportuno elaborar un gel con actividad antiinflamatoria y además probar la actividad cicatrizante en vista que la población le atribuye dicha propiedad, y compararlos con un fármaco de referencia para cada actividad (diclofenaco gel 1% y cicatricure), con el objetivo de contribuir mediante una forma farmacéutica económica aliviar la carencia de muchos pobladores de nuestra sociedad para acceder a los fármacos, conjugando los intereses de la industria con los de la sociedad y así justificar con base científica el uso de esta planta en la medicina tradicional.

Los resultados del screening fitoquímico realizado al extracto etanólico concuerda con los diferentes estudios precedentes a este trabajo. [33]

Los ensayos preliminares para la formulación del gel nos permitieron ver que la base presento muy buena compatibilidad con el principio activo y así nos permitieron elegir las concentraciones más adecuadas, que tenga una buena presentación, que asegure la estabilidad, su eficacia y la buena utilización por parte del paciente.

Siendo las concentraciones ensayadas al 5%, 10% y 15%; obteniendo una mejor respuesta al 15% para ambas actividades.

De los ensayos realizados podemos señalar que los geles elaborados, luego de los diversos controles fisicoquímicos y microbiológicos no afectan las características organolépticas del gel a pesar de las diferentes

concentraciones a la que se han preparado, manteniéndose dentro del rango permitido según la farmacopea USP 37.

En el estudio de la actividad antiinflamatoria se empleó el modelo experimental del edema auricular inducido por aceite de croton en ratones, siendo el aceite de croton un irritante vascular.

La respuesta inflamatoria consiste en eritema, edema e infiltración por leucocitos polimorfonucleares, así mismo se liberan mediadores de tipo eicosanoides y se induce la desgranulación de los mastocitos, también tiene una ventaja de tener una respuesta local que involucra la piel de la oreja. Por lo tanto es un modelo experimental que evita el metabolismo y excreción de drogas. Además utiliza pequeñas cantidades de muestra.

Al analizar los resultados del estudio antiinflamatorio todos los geles redujeron significativamente el edema inducido por el aceite de croton, siendo la formulación más efectiva el gel al 15% con un porcentaje de inhibición de 74.56% en comparación con el diclofenaco gel al 1% que tuvo una inhibición de 83.84% (Ver tabla N°6).

En el estudio de la actividad cicatrizante se empleó el modelo tensiométrico (vaisberg y col). Para la realización de este ensayo se probaron geles al 5%, 10% y 15%, teniendo mejor resultado este último.

El gel elaborado al 15% demostró mayor actividad que el fármaco de referencia (cicatricure).

Los mecanismos implicados en la acción antiinflamatoria en los cuales pueden intervenir los flavonoides son: inhibición de la liberación de histamina, inhibición de la migración celular (en el proceso inflamatorio los leucocitos se dirigen por quimiotactismo hacia el foco inflamatorio, donde son activados liberando eicosanoides y otros agentes proinflamatorios), acción antiradicalaria (actuando frente a los radicales libres que se originan en la inflamación), efecto protector vascular (contribuye a disminuir la exudación). Muchos de los flavonoides y fenoles cooperan en el efecto antiinflamatorio, pues una explicación posible seria la actividad inhibidora de

la prostaglandina sintetasa, impidiendo por lo tanto la síntesis de prostaglandinas, componente responsable de la actividad antiinflamatoria.

Según revisión bibliográfica se conoce que los taninos al presentar un poder astringente precipitan las proteínas de la piel activando el proceso de cicatrización mientras que los flavonoides también intervienen en la cicatrización porque evitan la liberación de prostaglandinas, histamina, migración de elementos formes y otros. Además estabilizan la membrana celular capturando a los radicales libres presentes, evitando así el daño celular y activando el complejo del sistema bioquímico para la regeneración del tejido.

Por lo tanto podemos decir que estos metabolitos encontrados en el screening fitoquímico realizado al extracto etanólico de las hojas de *Paracalia jungioides* (Hook y Arn) Cuatrec "Pirca" contribuyen en el efecto antiinflamatorio y cicatrizante.

VI. CONCLUSIONES

1. En el screening fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Paracalia Jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca", se identificaron los siguientes metabolitos secundario: flavonoides, taninos catequinas y grupos fenólicos.
2. Los ensayos fisicoquímicos y microbiológicos realizados a los geles de diferentes concentraciones elaborados a partir del extracto etanólico de las hojas de *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca" cumplen con las especificaciones evaluadas.
3. Los geles elaborados a partir del extracto etanólico de las hojas de *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec "Pirca" fueron al 5%, 10%, 15%, siendo la más efectiva el gel al 15% en ambas actividades.
4. El gel al 15% obtuvo un porcentaje de inhibición de la inflamación 74.56% en comparación con el diclofenaco gel al 1% que obtuvo un porcentaje de inhibición de la inflamación 83.84%.
5. El gel al 15% obtuvo un porcentaje de actividad cicatrizante un 95,53% en comparación con el cicatricure que obtuvo un porcentaje de 93,55 %.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se aconseja ampliar los estudios de la pirca (*Paracalia Jungioides)* ya que existe poca investigación científica.
2. Realizar estudios de estabilidad a los geles elaborados para obtener datos exactos en relación a la estabilidad del producto terminado.
3. Se recomienda hacer estudios farmacológicos y toxicológicos que permitan hacer una valoración general del uso de la especie en patología relacionadas con los procesos inflamatorios.
4. Realizar un estudio histológico de la herida con el objetivo de observar la regeneración celular.
5. Realizar pruebas de irritabilidad con la finalidad de que el gel sea tolerable a la piel.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. EstrellaE. Plantas Medicinales Amazónicas. Realidad y perspectiva tratado de Cooperación Amazónica - Lima. 1995.
2. Oliveira M, Velázquez D, Bermúdez A. La investigación etnobotánica sobre plantas una revisión de sus objetivos y enfoques actuales medicinales. Revista de ciencia y tecnología de América. 2005.
3. Medicina tradicional herbolaria. http://www.medicos.us/doctores/servicios/medicina/medicina_herbolaria/ 20120315.
4. Soukup J. Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana y catálogo de género. Edición Saleciana, Lima- Perú 1990, pág. 250-251.
5. Kuklinski C. Farmaconogsia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural.Omega. Barcelona.2003. pág. 113.
6. Bruneton, J.Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Editorial Acribia S.A.,Zaragosa. 1991.
7. Angulo P. La medicina tradicional en el desarrollo de medicamentos. el enfoque etnofarmacológico. Editorial de Mar. 1999.
8. Goodman A., Hardman G y Limbird L. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 10ma edición. Editorial Me Graw-Hill Interamericana. 2005.
9. Samaniego A. Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante de caléndula (Caléndula oficinales) tesis. Dr. Bioquímica y Farmacia Riobamba. Escuela superior politécnica del Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. 2006, pág.93. (consultado el 18 de noviembre del 2014) http://www.creasalud.com/Tintura-de-calendula.html

10. Geles, definición importancia http://Docencia.izt.uam.mx/ferm/uueeaa/material_adicional/ presentaciones_pdf/geles: 20141107.
11. Sharapin N. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo. Subprograma X. Química Fin. 2000.
12. Beltrán G. Katzung. Farmacología básica y clínica, 11 ava edición, editorial me Graw Hill. 2010.
13. Garayar R. Estudios de la actividad antiinflamatoria de las hojas de Trixis H.B.K. UNSLG.(Tesis).Ica. 1998.
14. Schmid G. Analysis of Inflammation. Annual Review of Biochemestry. 2006, 8:93-131.
15. Cameselle M. Inflamación aguda y crónica. M.Cameselle Tejeiro. Curso. 2012-2013, pág. 58-60 (consultado 24 de marzo del 2015) uscmed.files.wordpress.com/2013/03/inflamacion-ayc-2012_13-alum.pdf
16. Szekanecz Z, Koch A .Vascular endothelium and immune responses: Implications for inflamationn and angiogénesis. Rheumatology clinics of North America 2004, pág. 97-114. (consultado el 12 de diciembre del 2014)chttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15061570
17. Rivera V., Molina V. Coka E. Fisiología de Cicatrización. 1998, pág. 73. (consultado el 22 de febrero del 2015) http://www.medicosecuador.com/librosecng/articuloss/1/fisiologia_de_la _cicatricacion.htm

18. Alberet J. Clínicas dermatológicas: curación de heridas. Vol.4. Interamericana3° edición. México D.F. 1993. [Consultado 11 noviembre]. Disponible en: http://www.clinicadelapiel.com.pe/2011/11/dermatologia-clinica-2.html
19. LOEBL, S. Manual de farmacología, México Limusa 1988.pp.24,63, 379.
20. Domínguez, A. Acosta, L. Cuello D. efecto cicatrizante de extracto fluido de hojas de siempreviva. Rev Cubana Plant Med [periódico en la internet].2001 Abril [citado 2014 Julio 14]; 6(1): 16-18 disponible en: http//scielo. Sld.cu/scielo.php?script=sci_arttex&pid=S1028-47962001000100004&lng=es&nrm=iso.
21. Maldonado, E. Zapata, M. Determinación de la actividad cicatrizante y toxicidad aguda, in vivo, del extracto etanólico del fruto de la caesalpinea Spinoza (Mol) Kuntza; TARA.1997.
22. Katzung B. Masters S. Trevor A. Farmacologia básica y clínica 11°edición China: Ed.McGraw-Hill.Interamericana. 2010:.439-50.
23. El mundo de las plantas, flavonoides: http://www.botanical-online.com/medicinales flavonoides.htm.20140812
24. Chávez, H. Ferreyra, C. Molina, A. Revatta, L. Herrera, S. y Ramos, R. Tamizaje fitoquímico de especies medicinales de uso popular en la microrregión Nor Yauyos. Universidad "San Luis Gonzaga" de Ica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2005.
25. Lock, O. Investigación fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. 2da edición fondo editorial de la pontificia universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. 1994.

26. Fuertes, C. Roque. Alcarraz, M. Tristan, M. Flavonoides y Alcaloides de Lupinos Ballianus C.P.Smith con Actividad Antibacteriana y Antifungica UNMSM (Tesis). Lima. 1998.
27. Ajalcriña R. Formulación y evaluación de una pomada a partir del extracto etanólico de piper arboreum con actividad antiinflamatoria. Tesis para optar el título de químico farmacéutico. Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. 2001.
28. Vila S. Tecnología Farmacéutica. Formas Farmacéuticas. Vol. II. Editorial síntesis. 1997.
29. USP.24US. Pharmacopeia & Nacional Formulary, 2000,tomo I, p. 199, 200.
30. Cruz, P. Elaboración y Control de Calidad del Gel antimicótico de la Manzanilla, Matico. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Farmacia y Bioquímica, 2009. Pág.103-117. [Consultado 20 enero]. Disponible en: http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/547/1/tesis.pdf
31. Comunidad Andina. Resolución 1418. 9 de Junio 2011. Secretaria de la comunidad Andina.
32. CYTED. Manual de técnicas de investigación. Programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo.1995.
33. Arroyo L. Crisóstomo N. Gutiérrez O. Yactayo E. Angelino J. evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de Paracalia Jungioides (Hook & Arn) Cuatrec. UNSLG. (Proyecto de investigación).Ica. 2013.

34. Lapa, J. Métodos de evaluación de la actividad farmacológica de plantas medicinales. CYTED. 2002.

35. Gallegos P. Determinación de la actividad antiinflamatoria y cicatrizante de las hojas del Lupinos ballianus C.P. Smith (Lupinus).UNSLG. (Tesis). Ica. 2009.

36. Cando M. Comparación del efecto cicatrizante de geles elaborados a bases de propóleos y caléndula en heridas de conejos. Tesis. Dr. Bioquímica y farmacia. Riobamba. Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. 2006. Pág. 87-90. [Consultado 20 noviembre]. Disponible en: https://www.google.com.pe/search?hl=es-419&=tesis+de+propoleos+y+calendula&gbv=2&oq=tesis+de+propoleos+y+calendula&gs_l=heirloom- 1ac.1.34.heirloom-hp..7.0.0.M7VCWDxJZv4

37. García G .Molinero L. Formulación Magistral.1° ed. España: Ediciones Paraninfo, 2014. [Consultado 14 diciembre]. Disponible en: http://fórmula magistrales.pe/wp-content/uploads/2014/08/56T00201.pdf

38. Lattante R, Berutto M. Inflamación, Cátedra de anatomía y fisilogía Patológicas. Argentina: Facultad deCiencias Médicas UNR, 2012 :1-5 Disponible en : http//www.patologiafcm.com.ar/wploadas/downloads/2011/12/inflamacin-2012 pdf.

39. Soriano M., Bonilla I. Arrollo J., Pereyra S. Actividad cicatrizante tópica de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de senecio culcitoides Weed.Perú. 2004.

IX. ANEXOS

ANEXO N°1

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año de la Inversión para el Desarrollo Rural y la Seguridad Alimentaria"

CONSTANCIA Nº 201-USM-2013

LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (Hojas y tallo), recibida de **Oscar Gustavo GUTIERREZ HERNANDEZ y Litza Steffi ARROYO GALINDO**; de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica; ha sido estudiada y clasificada como: ***Paracalia jungloides (Hook. & Arn.) Cuatrec.;*** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: Paracalia

ESPECIE: *Paracalia jungloides (Hook. & Arn.) Cuatrec.*

Determinado por: Dra. Betty Millán (José Campos).

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

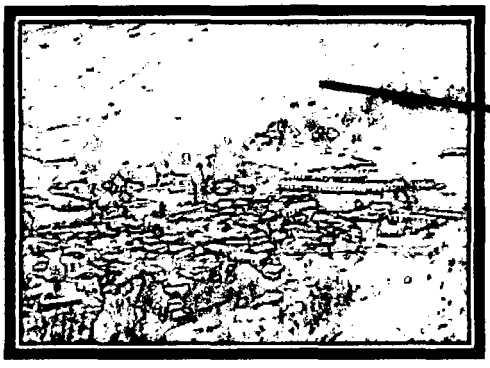
Fecha, 09 de agosto de 2013

Dra. Betty Millán Salazar
JEFA (e)
HERBARIO SAN MARCOS (USM)

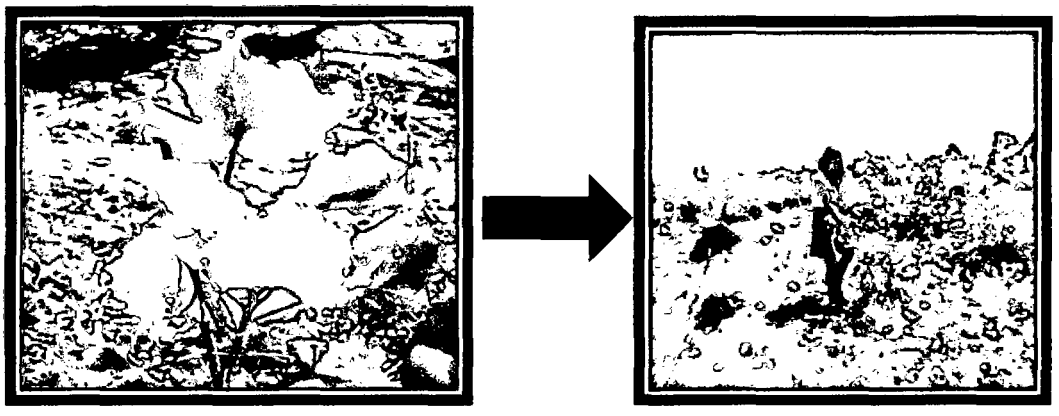
Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú
Telfs. (511) 471-0817, 470-4471
470-7918, 619-7000 anexo 5203
e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
http://museohn.unmsm.edu.pe

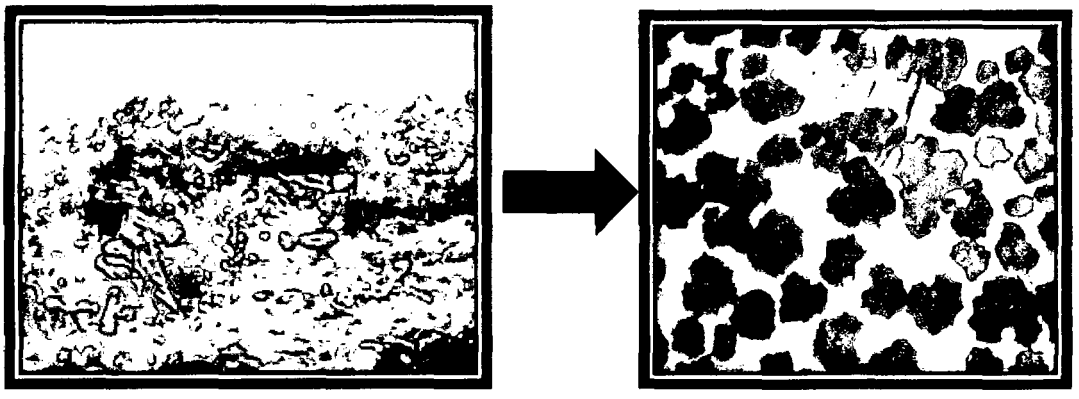
ANEXO N°2

RECOLECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LA ESPECIE VEGETAL



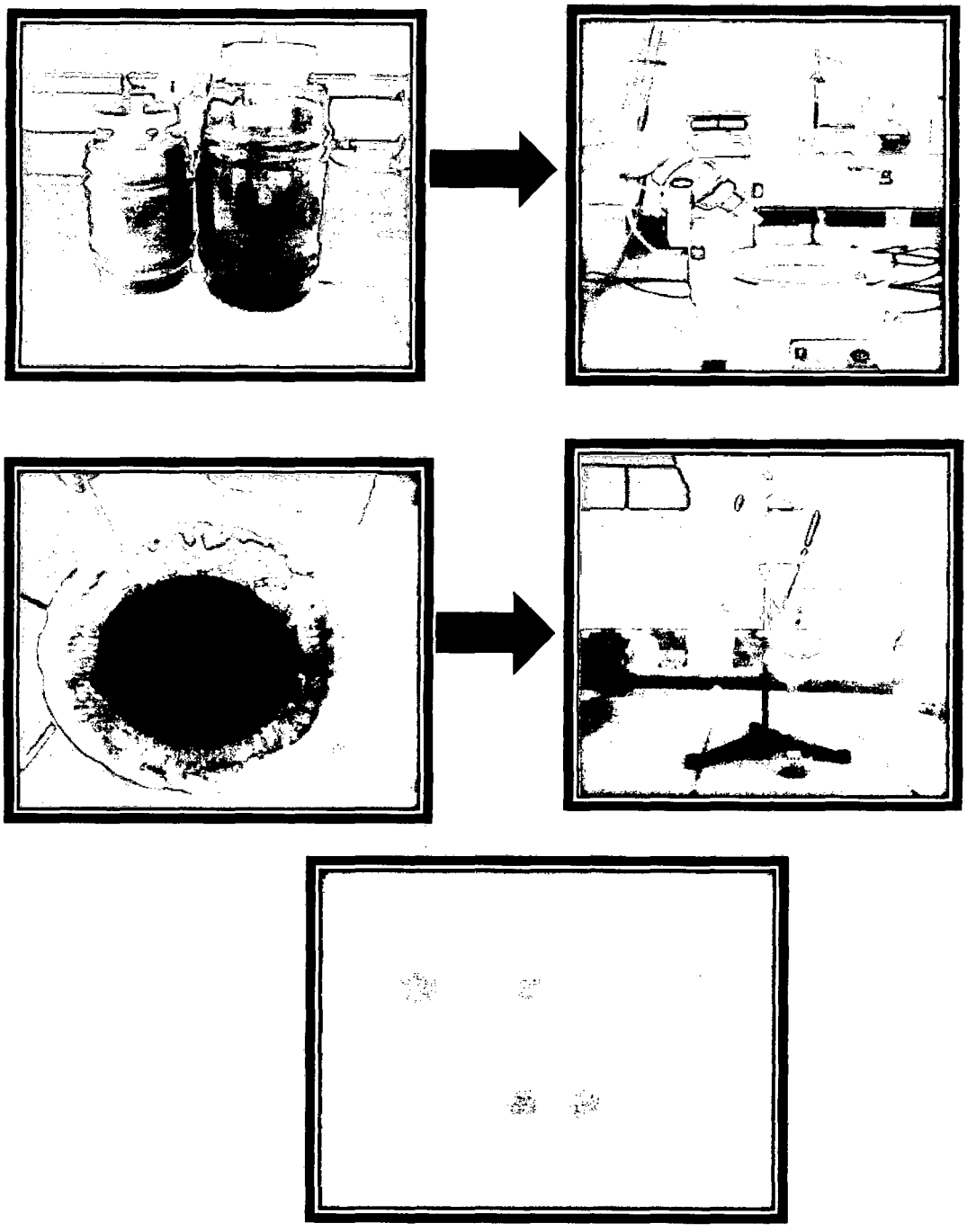
Lugar de recolección de las hojas de *paracalia jungioides* (hook y arn) cuatrec "pirca" fue en el distrito de de San juan de Yánac, provincia de Chincha





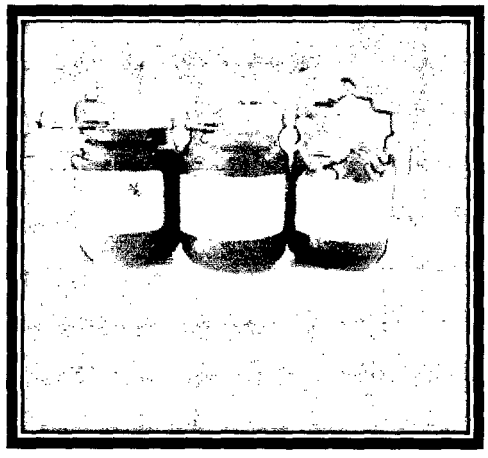
ANEXO N° 3

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO POR EL MÉTODO DE MACERACIÓN



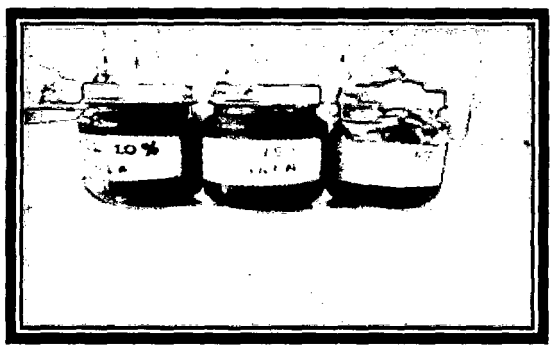
ANEXO N°4

ELABORACIÓN DEL GEL EN DIFERENTES PORCENTAJES

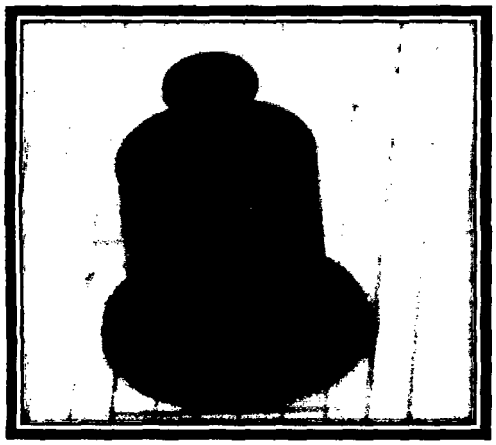


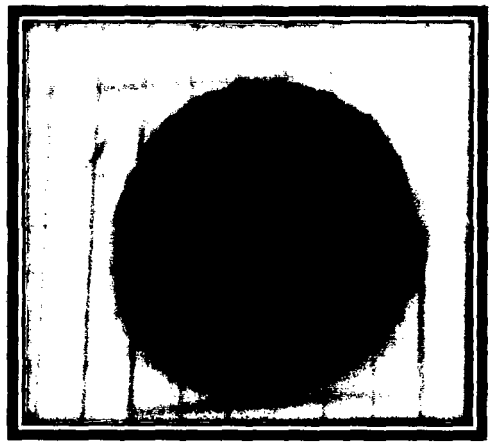
ANEXO N°5

ENSAYOS FISICOQUÍMICOS



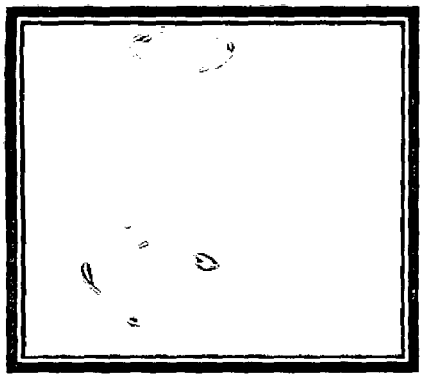
EXTENSIVILIDAD

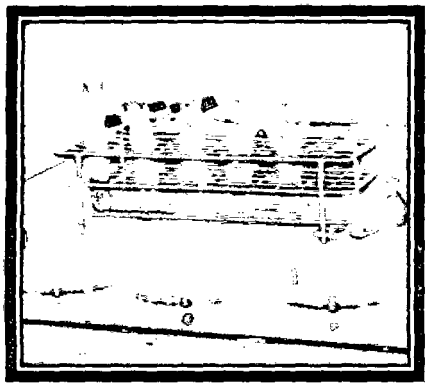


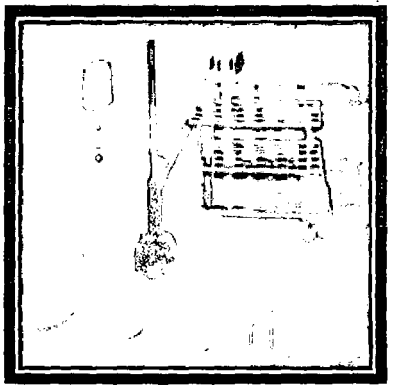


ANEXO N°6

ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

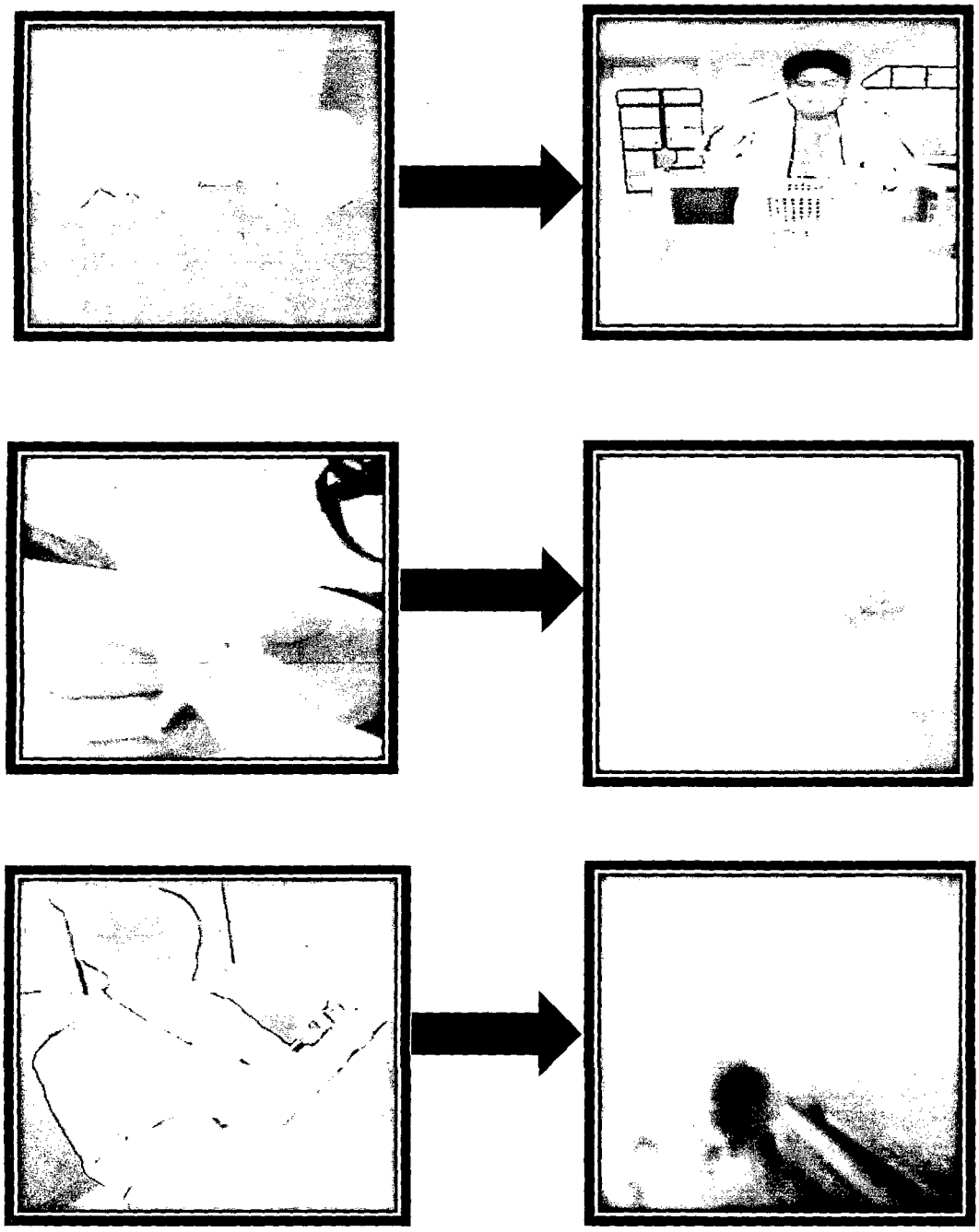


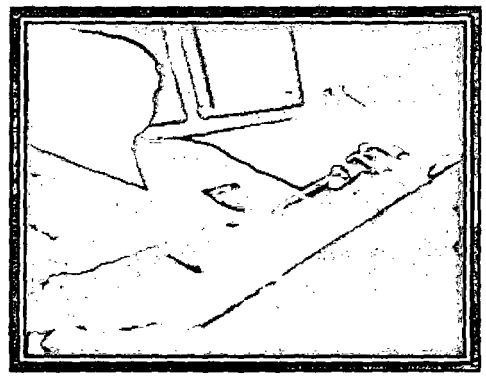
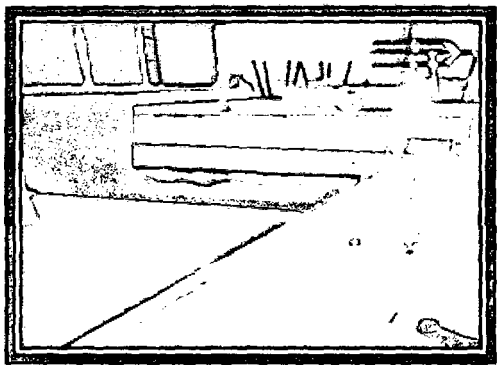
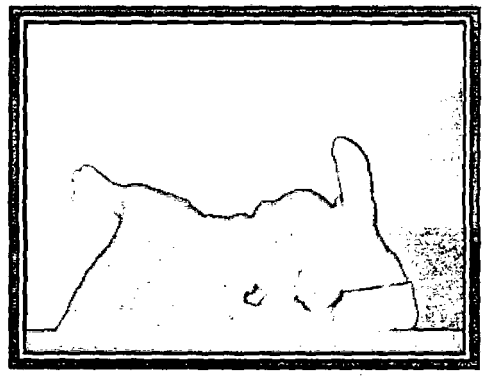




ANEXO N°7

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA



ANEXO N°8

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE