



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“ELABORACIÓN Y DETERMINACIÓN DE EFICACIA IN VIVO DE UN GEL  
PARA EL ACNÉ A BASE DE CALAGUALA (*Campyloneurum amphostenon*)”**

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR**

**TATIANA LIZBETH GUEVARA MOLINA**

**RIOBAMBA-ECUADOR**

**2011**

## **DEDICATORIA**

*Dedico este proyecto y mi vida universitaria a Dios quien ha sido mi guía durante mi carrera académica y en cada paso y decisión que he tomado; y a la Virgen Dolorosa por cuidarme siempre.*

*A mi amado esposo Alex por que éste proyecto también es tuyo, por el apoyo en la realización de mi sueño y porque todos los logros que alcanzamos son alegría para los dos*

*A mi hijo Aaron Nicolás quien ha venido a iluminar mi vida y quien de manera especial se merece todo reconocimiento, porque me prestaste buen tiempo del que te correspondía para poder culminar este objetivo*

*A mi padre Guillermo por ser mi guía, ejemplo de superación, por todos los consejos que me ha dado para formar a la mujer que soy ahora*

*A mi madre Gina que con amor y paciencia siempre me cuidas y me apoyas, por todas las noches en vela y el sacrificio que has hecho por ayudarme en todo momento, por tus consejos.*

*A mis hermanas y hermano Sandy, Rena, Dennys por todo su apoyo incondicional durante todos estos años y el gran amor de hermanos que nos une.*

*A Héctor y Carmen por ser como mis padres, por su apoyo, comprensión y cariño*

*A mis cuñados Paúl y Oscar, quienes desinteresadamente nos han apoyado.*

*A todos mis amigos en especial a Xavier y Juan Carlos que hicieron que mi transcurso por la universidad sea más agradable, todos los momentos que hemos vivido los llevo en mi corazón*

## **AGRADECIMIENTO**

*Quiero agradecer a todos quienes han hecho posible la realización de éste proyecto.*

*A Dios quien me ha permitido culminar esta meta con su bendición.*

*A la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO y la Escuela de BIOQUÍMICA Y FARMACIA por entregarme todos los conocimientos para la realización de mi trabajo, por formarme como profesional.*

*A BQF. Fausto Contero B. por ser guía y maestro, por sus enseñanzas para culminar éste proyecto.*

*A Dr. Pablo Naveda por su acertada participación y apoyo en la realización de mi trabajo.*

*A mi Familia, por todo su apoyo y amor a lo largo de mi carrera universitaria.*

*A mi Esposo Alex y mi hijo Nicolás gracias por su apoyo, por ser la fuerza que me impulsa a seguir adelante y por todo su amor. Les amo*

*A Paulina Carrillo por su colaboración desinteresada para la realización de mi proyecto.*

*A mis amigos por su amistad y apoyo en todo momento.*

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “ELABORACIÓN Y DETERMINACIÓN DE EFICACIA IN VIVO DE UN GEL PARA EL ACNÉ A BASE DE CALAGUALA (*Campyloneurum amphostenon*)” de responsabilidad de la Sra. Egresada Tatiana Lizbeth Guevara Molina, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dra. Yolanda Díaz	_____	_____
<b>DECANA FAC. CIENCIAS</b>		
Dr. Luis Guevara	_____	_____
<b>DIRECTOR DE ESCUELA</b>		
BQF. Fausto Contero B	_____	_____
<b>DIRECTOR DE TESIS</b>		
Dr. Pablo Naveda	_____	_____
<b>MIEMBRO DE TRIBUNAL</b>		
Lcdo. Carlos Rodríguez	_____	_____
<b>DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN</b>		
<b>NOTA DE TESIS ESCRITA</b>	_____	

Yo, Tatiana Lizbeth Guevara Molina, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de la tesis de grado, pertenece a la

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

-----  
TATIANA LIZBETH GUEVARA MOLINA

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

<b>1.</b>	<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
1.1	Fitoterapia.....	1
1.1.1	Los medicamentos fitoterápicos.....	1
1.2.	Formas farmacéuticas.....	2
1.2.2	Preparaciones semisólidas para aplicación cutánea.....	3
1.2.2.1	Definición.....	3
1.2.3	Geles.....	4
1.2.3.1	Definición.....	4
1.2.3.2	Características de un gel.....	5
1.3	Acné.....	5
1.3.1	Causas, incidencia y factores de riesgo.....	5
1.3.2	Mecanismos patogénicos del acné.....	7
1.3.3	Clasificación.....	8
1.3.3.1	Acné excoriado.....	8

1.3.3.2	Acné tropical.....	9
1.3.3.3	Dermatitis perioral.....	9
1.3.3.4	Hidrosadenitis o acné apócrino.....	9
1.3.3.5	Nevo Comedónico.....	10
1.3.3.6	Acné por fármacos.....	10
1.3.3.7	Acné por aceites. elaiocniosis.....	10
1.3.3.8	Acné industrial cloracné.....	10
1.3.3.9	Acné por diesel.....	11
1.3.3.10	Acné fulminante.....	11
1.3.4	Síntomas.....	13
1.4	Plantas medicinales.....	13
1.4.1	Extractos.....	13
1.4.1.1	Extractos botánicos para fines farmacéuticos.....	14
1.4.1.2	Materia prima vegetal para la obtención de extractos.....	15
1.4.1.3	Métodos de extracción.....	16
1.4.1.4	Clasificación de los extractos vegetales.....	16
1.4.1.5	Extractos fluidos.....	17
1.4.1.6	Obtención de extractos.....	17
1.4.1.5	Extractos fluidos.....	18
1.4.1.6	Obtención de extractos.....	18
1.4.1.7	Obtención de extractos por percolación.....	19
1.4.1.8	Concentración de extractos.....	19
1.4.1.8.1	Secado.....	19
1.5	Control de calidad.....	20
1.6	Calaguala.....	21

1.6.1	Clasificación botánica de <i>C. Amphostenon</i> .....	21
1.6.2	Descripción de la Calaguala.....	21
1.6.3	Estudios Químicos.....	23
1.6.4	Estudios metabólicos con Calagualina.....	23
1.6.5	Estudios clínicos con la Calagualina.....	24
1.6.6	Efectos Fármaco-Terapéuticos.....	24
1.6.7	Constituyentes químicos de las Calagualas.....	24
<b>2.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>26</b>
2.1	Lugar de investigación.....	26
2.2	Materiales equipos y reactivos.....	26
2.2.1.	Material Biológico.....	26
2.2.2	Materiales.....	26
2.2.3	Equipos.....	27
2.2.4	Reactivos.....	28
2.3	Metodología.....	29
2.3.1	Pruebas de control de calidad de la especie vegetal.....	29
2.3.1.1	Determinación de humedad.....	29
2.3.1.2	Determinación de cenizas totales.....	30
2.3.1.3	Determinación de cenizas solubles en agua.....	31
2.3.1.4	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.....	32
2.3.1.5	Determinación de sustancias solubles.....	32
2.3.1.6	Análisis espectrofotométrica del marcador químico: Flavonoides totales expresado como porcentaje de Quercetina.....	33
2.3.1.7	Cuantificación de flavonoides.....	34
2.3.2	Determinación de microorganismos contaminantes en la	

	droga cruda.....	35
2.3.2.1	Método de conteo de aerobios Mesófilos totales en placa.....	36
2.3.2.2	Determinación de Coliformes totales.....	36
2.3.2.3.	Determinación de Coliformes Fecales.....	38
2.3.2.4.	Método de conteo de mohos en placa.....	39
2.3.3	Preparación para la obtención del extracto fluido.....	39
2.3.3.1	Método por percolación.....	39
2.3.4	Control de calidad del extractos.....	40
2.3.4.1	Descripción organoléptica.....	40
2.3.4.2	Determinación del pH.....	41
2.3.4.3	Determinación de la densidad relativa.....	41
2.3.4.4	Determinación del índice de refracción.....	42
2.3.4.5	Determinación de sólidos totales.....	43
2.3.4.6	Tamizaje Fitoquímico.....	43
2.3.5	Control de calidad de los excipientes utilizados en la elaboración del antiacné a base de Calaguala.....	48
2.3.6	Determinación de las cantidades y tipos de excipientes adecuados para la formulación del gel antiacné a base de Calaguala.....	50
2.3.7	Preparación del gel.....	51
2.3.8	Protocolo de administración del producto a los pacientes voluntarios con Acné.....	51
2.3.9	Control de calidad de los productos terminados.....	52
2.3.9.1	Control de calidad del gel.....	52
2.3.9.2	Análisis Microbiológico.....	53
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>55</b>
3.1.	Control de calidad de la droga cruda.....	55

3.1.1	Determinación del contenido de humedad.....	55
3.1.2	Determinación de cenizas totales.....	56
3.1.3	Determinación de sustancias solubles.....	57
3.2	Determinación de los parámetros de calidad del extracto fluido...	57
3.2.1	Descripción organoléptica.....	57
3.2.2	Parámetros físicos.....	58
3.2.3	Reacciones de caracterización, tamizaje fitoquímico.....	58
3.3	Control de calidad de los excipientes.....	59
3.3.1	Carbopol 940 Nf.....	59
3.3.2	Trietanolamina (Tea) Nf.....	60
3.3.3	Alcohol Etílico (Alcohol Potable).....	61
3.4	Determinación de flavonoides por cromatografía.....	62
3.5	Concentración de flavonoides expresados como Quercetina en el gel antiacné de Calaguala.....	63
3.6	Control de calidad del gel antiacné a base de Calaguala.....	63
3.6.1	Propiedades físicas.....	63
3.6.2	Determinación del pH.....	64
3.6.3	Determinación de la extensibilidad.....	64
3.6.4	Determinación de la viscosidad.....	65
3.6.5	Análisis Microbiológico.....	65
3.6.6	Evaluación de la actividad terapéutica del gel de Calaguala ( <i>Campyloneurum Amphostenon</i> ).....	65
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>80</b>
<b>5.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>83</b>
<b>6.</b>	<b>RESUMEN.....</b>	<b>84</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>85</b>

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

HR	Humedad Relativa
Log	Logaritmo
=	Igual
$\lambda$	Longitud de onda
-	Negativo
>	Mayor que
<	Menor que
%	Porcentaje
A	Aspecto
°C	Grados Celsius
cm	Centímetros
g	Gramos
Kg	Kilogramos
L	Litro
No	Número
NMP	Número más probable
mg	Miligramo

mL	Mililitro
mm	Milímetro
MP	Materia prima
OMS	Organización mundial de salud
pH	Potencial de hidrógeno
T	Temperatura
t	Tiempo
TLC	Cromatografía en capa fina
UFC	Unidad formadora de colonia
AAD	Asociación americana de dermatología
USP	United States Pharmacopeia
TEA	Trietanolamina
NCF	Normas correctas de fabricación
OGY	oxitetraciclina glucosa yeast
Min	mínimo
Rpm	revoluciones por minuto
N	normalidad
BM	Baño maria
TSA	tripticosa soya agar

TAT Azoleccitina tripticasa caldo con tween

SAB Sabourad dextrosa agar

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Escala de severidad del acné inflamatorio según AAD....	12
TABLA No. 2	Época óptima para cosecha de plantas.....	15
TABLA No. 3	Cuadro utilizada para la interpretación del NMP para la determinación de Coliformes Totales.....	37
TABLA No. 4	Formulación del gel antiacné de Calaguala al 20%.....	50
TABLA No. 5	Formulación del gel antiacné de Calaguala al 30%.....	50
TABLA No. 6	Formulación del gel antiacné de Calaguala al 40%.....	51
TABLA No 7	Datos obtenidos de la evaluación terapéutica del gel anticné a base de Calaguala a diferentes concentraciones.....	66
TABLA No. 8	Datos obtenidos en el tiempo de tratamiento con gel de Calaguala a una concentración del 20%.....	68
TABLA No. 9	Evaluación de la eficacia del gel de Calaguala al 20% por tipo de acné.....	69
TABLA No. 10	Datos obtenidos en el tiempo de tratamiento con gel de Calaguala a una concentración del 30%.....	70
TABLA No. 11	Evaluación de la eficacia del gel de calaguala al 30% por tipo de acné.....	71
TABLA No. 12	Datos obtenidos a lo largo del tratamiento con gel de Calaguala con concentración al 40%.....	72
TABLA No. 13	Evaluación de la eficacia del gel de Calaguala al 40% por tipo de acné.....	73
TABLA No. 14	Comparación de eficacia del gel antiacné a base de Calaguala en sus diferentes concentraciones.....	74
TABLA No. 15	Comparación de la eficacia del gel de Calaguala de acuerdo a su actividad terapéutica.....	76
TABLA No. 16	Datos obtenidos durante el tratamiento con placebo a los pacientes con acné.....	76
TABLA NO. 17	Determinación de eficacia del gel de Calaguala mediante análisis de varianzas y Test de Tukey.....	79

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Clasificación botánica de <i>C. amphostenon</i> .....	21
CUADRO No. 2	Resultados de la determinación de humedad en droga pulverizada de calaguala como materia prima.....	56
CUADRO No. 3	Resultados de la determinación de cenizas en droga pulverizada de calaguala como materia prima.....	57
CUADRO No. 4	Resultados de la determinación de cenizas solubles en agua en droga pulverizada de calaguala como materia prima.....	57
CUADRO No. 5	Resultados de la determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en droga pulverizada de calaguala como materia prima.....	58
CUADRO No. 6	Resultados de la determinación del porcentaje de sustancias solubles en droga pulverizada de calaguala como materia prima .....	58
CUADRO No 7	Resultados de la descripción organoléptica del extracto fluido de rizoma de calaguala.....	59
CUADRO No.8	Resultados de la determinación de parámetros de calidad del extracto fluido de rizoma de calaguala.....	59
CUADRO No. 9	Resultados del tamizaje fitoquímico en extracto fluido de rizoma de calaguala.....	60
CUADRO No. 10	Control de calidad de los excipientes para el gel antiacné a base de calaguala.....	61
CUADRO No. 11	Control de calidad de los excipientes para el gel antiacné a base de calaguala.....	62
CUADRO No. 12	Control de calidad del alcohol potable utilizado para la obtención del extracto fluido para el gel antiacné a base de calaguala.....	62
CUADRO No 13	Determinación de Rf. del extracto fluido y el gel de calaguala	64
CUADRO No. 14	Contenido de flavonoides expresados como quercetina y datos para su cálculo.....	65
CUADRO No. 15	Determinación de parámetros físicos del gel.....	65

CUADRO No.16	Determinación del pH del gel antiacné a base de calaguala.....	66
CUADRO No. 17	Determinación de extensibilidad del gel antiacné a base de calaguala.....	66
CUADRO No.18	Determinación de la viscosidad del gel antiacné a base de calaguala.....	66
CUADRO No.19	Determinación microbiológica del gel antiacné a base de calaguala.....	67

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO No. 1	Reducción del número de granos en los pacientes tratados con gel de Calaguala.....	67
GRAFICO No. 2	Reducción del número de granos en los pacientes tratados con gel de Calaguala al 20% de concentración.....	68
GRAFICO No. 3	Evaluación de la eficacia del gel de calaguala a una concentración del 20% por tipo de acné.....	69
GRAFICO No. 4	Reducción del número de granos en los pacientes tratados con gel de Calaguala al 30% de concentración.....	70
GRAFICO No. 5	Comparación de la eficacia del gel de Calaguala al 30% respecto al tipo de acné.....	71
GRAFICO No. 6	Reducción del número de granos en los pacientes tratados con gel de Calaguala al 40% de concentración.....	72
GRAFICO No. 7	Comparación de la eficacia del gel de Calaguala al 40% respecto al tipo de acné.....	73
GRÁFICO No. 8	Comparación de eficacia del gel antiacné a base de Calaguala en sus diferentes concentraciones.....	74
GRAFICO No. 9	Comparación de la eficacia del gel de Calaguala de acuerdo a su actividad terapéutica.....	75
GRAFICO No. 10	Reducción del número de granos desde la primera semana hasta la última semana de tratamiento por placebo.....	77
GRAFICO No. 11	Comparación de la eficacia del gel a base de calaguala frente a efecto placebo.....	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	El acné se desarrolla cuando el sebo y las células epidérmicas bloquean los folículos. Las bacterias pueden despertar la inflamación.....	8
FIGURA No. 2	Proceso de obtención de extractos a partir de plantas medicinales.....	15

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Tipo de acné según su grado de severidad.....	13
FOTOGRAFÍA No. 2	Rizoma de planta de Calaguala ( <i>Campyloneurum amphostenon</i> ).....	21
FOTOGRAFÍA No. 3	Cromatografía en capa fina.....	61
FOTOGRAFÍA No. 4	Proceso de elaboración del extracto de calaguala mediante percolación.....	90
FOTOGRAFÍA No. 5	Concentrado del extracto mediante rotavapor.....	90
FOTOGRAFÍA No. 6	Producto terminado y envasado. Gel de calaguala a diferentes concentraciones.....	91
FOTOGRAFÍA No. 7	Determinación del pH en el gel de Calaguala con un Potenciómetro.....	91
FOTOGRAFÍA No. 8	Determinación de la viscosidad mediante un Viscosímetro.....	91
FOTOGRAFÍA No. 9	Control de calidad microbiológico.....	92
FOTOGRAFÍA No. 10	Identificación del principio activo mediante cámara UV.....	92
FOTOGRAFÍA No. 11	Paciente tratado con gel de calaguala en la semana 1...	92
FOTOGRAFÍA No. 12	Paciente tratado con gel de calaguala en la semana 3...	93
FOTOGRAFÍA No. 13	Paciente tratado con gel de calaguala en la semana 5...	93
FOTOGRAFÍA No. 14	Paciente tratado con gel de calaguala en la semana 8...	93

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No 1	Proceso de obtención de la materia prima para la elaboración del gel antiacné a base de calaguala.....	90
ANEXO No. 2	Control de calidad del gel de calaguala.....	91
ANEXO No. 3	Proceso de evaluación de gel de calaguala.....	92

## INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido utilizadas desde la época de nuestros ancestros para curar enfermedades. En la industria farmacéutica es evidente la evolución por la incorporación al campo de la salud de nuevos medicamentos que tienen como objetivo mejorar el nivel y la calidad de vida de las personas.

Actualmente en todo el mundo, la llamada medicina natural mueve miles de millones de dólares. En Estados Unidos cada año el 30% de los enfermos que han visitado en un primer momento a un médico tradicional, acaba probando la medicina natural. (21)

Este hecho hace que el tratamiento de primera instancia sea con productos naturales para tratar enfermedades como el acné.

El acné es una enfermedad cutánea que afecta tanto física como psicológicamente a las personas que la padecen, de allí tiene importancia investigar e incorporar nuevos fitofármacos al campo de la medicina natural con el objetivo de prevenir y/o curar dichas enfermedades. (11)

Más de 60 millones de personas en los Estados Unidos se ven directamente afectados por el acné, sólo alrededor del 11% buscan una opinión profesional o una solución. (27)

Entonces el desarrollo de un producto antiacné que cumpla con los requisitos fisicoquímicos de calidad a partir de concentraciones adecuadas de extracto con plantas comunes de nuestro medio y sin un procedimiento demasiado complejo, será una

alternativa válida de bajo costo, constituye un foco de diseminación en el hombre, siendo responsable del desarrollo posterior de lesiones, problema que obliga a buscar estrategias de solución que permitan curar estas enfermedades por lo que se elaborará un gel con propiedades anti acné que cumplirá con los requisitos de calidad y seguridad exigido a todos los fitofármacos.

Además debemos tener en cuenta que los productos a base de extractos de plantas tienen menos efectos secundarios que los productos farmacéuticos, y su empleo en la atención médica primaria puede lograr que se hagan ahorros en las cuentas destinadas a la atención médica en el país y la economía de los pacientes que acuden a este tipo de tratamiento.

Hay que reconocer que el trabajo investigativo siempre ha sido una herramienta primordial para el avance de la ciencia y así mejorar la calidad de vida de las personas.

En este caso los objetivos planteados para la presente investigación fueron: elaborar y determinar la eficacia in vivo de un gel para el acné a base de extracto de calaguala (*Campyloneurum amphostenon*), para lo cual se realizó el control de calidad de la materia prima (rizoma de calaguala), se obtuvo el extracto hidroalcohólico de calaguala mediante percolación, se realizó el tamizaje fitoquímico del extracto de calaguala, se formuló un gel con tres concentraciones del extracto de calaguala, se comprobó la efectividad del gel anti acné a base de extracto de calaguala con pruebas en 40 pacientes voluntarios. La hipótesis planteada en esta investigación fue: El gel elaborado a partir de extracto de calaguala (*Campyloneurum amphostenon*) es más efectivo que el placebo y el gel comercial "OXY" en el tratamiento del acné.

## **CAPÍTULO I**

### **1. MARCO TEÓRICO**

#### **1.1 FITOTERAPIA**

La fitoterapia es la ciencia que estudia el uso de las plantas con propósitos terapéuticos, es aquel método que se usa con fines terapéuticos, preventivos, de bienestar orgánico y psíquico, con aplicación de las propiedades especiales de hierbas y plantas naturales. Su desarrollo racional requiere disponer de medicamentos a base de plantas, cuya calidad, seguridad y eficacia estén garantizadas, teniendo en cuenta las especiales características de las drogas vegetales y extractos. (1, 2,3)

##### **1.1.1 LOS MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS**

Los medicamentos fitoterápicos son aquellos cuyos ingredientes activos están constituidos por productos de origen vegetal, que deberán ser convenientemente preparados, dándole la forma farmacéutica más adecuada para su administración al paciente.

Por tanto, para la elaboración de dichos medicamentos se pueden emplear:

- Drogas vegetales, que generalmente se presentarán troceadas o pulverizadas.
- Productos obtenidos por extracción (tinturas, extractos fluidos, extractos blandos, extractos secos) o por destilación (aceites esenciales).
- Principios activos purificados. El término droga vegetal no debe confundirse con el de planta medicinal.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) definió la planta medicinal en 1978 como cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica.

Por lo que se refiere al término droga vegetal, la OMS lo definió de forma escueta como la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica. Así, por ejemplo, *Valeriana officinalis* (valeriana), *Hypericum perforatum* (hipérico o hierba de San Juan), *Vitex agnus-castus* (agnocasto o sauzgatillo) o *Cimicifuga racemosa* (cimicífuga) son plantas medicinales, que proporcionan respectivamente las siguientes drogas vegetales: raíz de valeriana (*Valerianae radix*), sumidad de hipérico (*Hyperici herba*), fruto de agnocasto (*Agni casti fructus*) y rizoma de cimicífuga (*Cimicifugae rizoma*). (3)

## 1.2. FORMAS FARMACÉUTICAS

Los medicamentos se elaboran y comercializan bajo distintas formas, pueden ser comprimidos, cápsulas, jarabes, inyectables, pomadas, etc, de esta manera se podrá elegir la más adecuada para cada paciente en función de sus características y de su situación patológica concreta.

Así, a veces se hace necesario un inyectable o cuando se pretende una acción local utilizaríamos una pomada; también puede ocurrir que algunas personas tengan dificultad

para tragar un comprimido o una cápsula, en este caso estudiaríamos alternativas, como por ejemplo una solución o un jarabe.

Según sea la forma farmacéutica del medicamento, la vía de administración será distinta.

(4)

### **1.2.1 COMPONENTES**

- Sustancias Activas : es la farmacológicamente activa
- Vehículo: es la sustancia añadida a las formas medicamentosas líquidas (agua, alcohol, propilenglicol, éter, ácido acético etc.)
- Conectivo: se le adjuntan para modificar sus características organolépticas ej.: edulcorantes (5)

### **1.2.2 PREPARACIONES SEMISÓLIDAS PARA APLICACIÓN CUTÁNEA**

#### **1.2.2.1 DEFINICIÓN**

Las preparaciones semisólidas para aplicación cutánea se formulan para conseguir una liberación local o transdérmica de los principios activos, o para su acción emoliente o protectora.

Tienen un aspecto homogéneo. Las preparaciones semisólidas para aplicación cutánea están constituidas por una base, simple o compuesta, en la cual habitualmente están disueltos o dispersos uno o más principios activos. La composición de esta base puede tener influencia sobre los efectos de la preparación.

Las bases utilizadas pueden ser sustancias de origen natural o sintético y estar constituidas por un sistema de una o varias fases. De acuerdo con la naturaleza de la base, la preparación puede tener propiedades hidrófilas o hidrófobas; puede contener excipientes adecuados, como conservantes antimicrobianos, antioxidantes, estabilizantes, emulgentes, espesantes y agentes de penetración.

Se pueden distinguir varias categorías de preparaciones semisólidas para aplicación cutánea:

— Pomadas,

— Cremas,

— Geles,

— Pastas,

— Cataplasmas,

— Emplastos medicados.

### **1.2.3 GELES**

#### **1.2.3.1 DEFINICIÓN**

Los geles están formados por líquidos gelificados con la ayuda de agentes gelificantes apropiados.

*Geles lipófilos:* Los geles lipófilos (oleogeles) son preparaciones cuyas bases están constituidas habitualmente por parafina líquida con polietileno o por aceites grasos gelificados con sílice coloidal o por jabones de aluminio o zinc.

*Geles hidrófilos:* Los geles hidrófilos (hidrogeles) son preparaciones cuyas bases generalmente son agua, glicerol y propilenglicol gelificado con la ayuda de agentes gelificantes apropiados tales como almidón, derivados de la celulosa, carbómeros y silicatos de magnesio y aluminio. (6)

#### **1.2.3.2 CARACTERÍSTICAS DE UN GEL**

Las características principales que posee un gel son:

- a) Estos tienen una consistencia semisólida o fluida.
- b) Su aspecto puede ser un transparente o turbio.
- c) Presentan una estructura de tipo continua.
- d) Comportamiento pseudoplástico.
- e) El pH está entre 4,5 y 8,5 (13)

### 1.3 ACNÉ

El acné, también conocido como acné común (*acné vulgaris*), es una enfermedad inflamatoria de la piel que no es causada por una infección bacteriana. Se debe a cambios de las unidades pilosebáceas (estructuras de la piel consistentes en un folículo piloso y la glándula sebácea asociada) y que es una congregación de materia. El término «acné» proviene del francés *acné* y este, a su vez, de la palabra griega *ἄχνη*. (7)

#### 1.3.1 CAUSAS, INCIDENCIA Y FACTORES DE RIESGO

El acné se presenta cuando se taponan los orificios diminutos en la superficie de la piel llamados poros.

- Cada poro es una abertura a un folículo, el cual contiene un cabello y una glándula sebácea. Estas glándulas sebáceas ayudan a lubricar la piel y a eliminar las células cutáneas viejas.
- Cuando las glándulas producen demasiado aceite, los poros pueden resultar obstruidos. Se acumula suciedad, desechos, bacterias y células inflamatorias. La obstrucción se denomina tapón o comedón.
- La parte superior del tapón puede ser blanca (acné miliar) u oscura (espinilla negra).

- Si el tapón se rompe, el material que se encuentra dentro causa hinchazón y formación de protuberancias rojas.
- Si la inflamación es profunda en la piel, los granos pueden agrandarse hasta formar quistes firmes y dolorosos.

El acné es un problema de hinchazón e inflamación y no un problema causado por bacterias.

Es muy común en adolescentes, pero puede darse a cualquier edad, incluso en un bebé. Tres de cada cuatro adolescentes tienen acné. Los cambios hormonales probablemente causen el aumento de aceite en la piel. Sin embargo, las personas hacia los 30 y 40 años también pueden tener acné.

El acné tiende a ser hereditario y puede desencadenarse por:

- Cambios hormonales relacionados con los períodos menstruales, el embarazo, las píldoras anticonceptivas o el estrés.
- Cosméticos o productos para el cabello grasos u oleaginosos.
- Ciertos fármacos (como los esteroides, la testosterona, los estrógenos y la fenitoína).
- Niveles altos de humedad y sudoración.

A pesar de la creencia popular de que el chocolate, las nueces, los alimentos grasos causan acné, las investigaciones no confirman esta idea. Sin embargo, las dietas ricas en azúcares refinados pueden estar relacionadas con el acné.

### **1.3.2 MECANISMOS PATOGÉNICOS DEL ACNÉ**

El acné es una enfermedad inflamatoria de etiología multifactorial que afecta al folículo pilosebáceo.

Los factores patogenéticos más significativos son:

1. Queratinización ductal anormal:

- Aumento de proliferación de los queratinocitos
- Obstrucción de los folículos debido a una queratinización anormal del epitelio infundibular

2. Aumento de la secreción de sebo estimulada por los andrógenos.

3. Colonización microbiana de la unidad pilosebácea por el *Propionibacterium acnes*.

4. Inflamación intra y perifolicular.

De forma esquemática, se podría decir que el elemento inicial es la queratinización anómala de los queratinocitos, lo que crea el microcomedón. Al mismo tiempo, el aumento de los andrógenos circulantes en la pubertad estimula la producción de sebo. Estos elementos se combinan en la unidad pilosebácea para crear un ambiente favorable a la colonización por *Propionibacterium acnes*, quien a su vez secreta varias moléculas inflamatorias y factores quimiotácticos que inician y perpetúan la respuesta inflamatoria. (8,9)

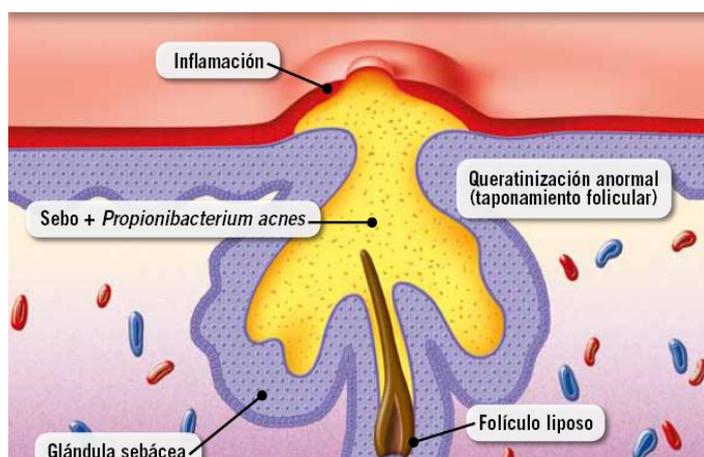


FIGURA 1. FORMACIÓN DEL ACNÉ

Fuente: <http://www.laboratoriossthea.com/archivos/publicaciones/00055.pdf>

### **1.3.3 CLASIFICACIÓN**

Tradicionalmente se ha dividido al acné por la predominancia de sus lesiones elementales en acné comedónico donde hay más comedones y muy pocas pápulas y pústulas, es el llamado grado I.

Acné pápulo-pustuloso con muchas de estas lesiones inflamatorias y comedones abiertos y cerrados, es el grado II.

En los grados III y IV se pueden determinar abscesos y quistes que dejan cicatrices muy notorias, comedones abiertos y cerrados que tienen poros dobles o triples y con una topografía más diseminada o extensa.

#### **1.3.3.1 ACNÉ EXCORIADO**

Descrito por los clínicos franceses en mujeres jóvenes que con sus propias manos lesionaban la cara al tratar de exprimir las lesiones inflamatorias con las consecuentes manchas oscuras y cicatrices excoriadas y lineales, en esta variedad se puede descubrir una gran carga de culpabilidad y autoagresión, existe en mayor o menor proporción un trastorno psiquiátrico de tipo obsesivo compulsivo

#### **1.3.3.2 ACNÉ TROPICAL**

Se observa más en jóvenes de las costas en zonas con calor y humedad ambiental, casos de acné con grandes abscesos, quistes y cicatrices muy deformantes, más extensos en la piel de evolución muy recidivante y con los comedones abiertos que se asoman por 2 ó 3 poros.

El denominado acné corticoestropeado con seborrea muy intensa, pústulas y abscesos grandes que deforman la cara forman plastrones infiltrados con costras sanguíneas y melicéricas que pueden ser confundidas con impétigos profundos, se encuentra siempre el antecedente de mal uso de corticoides fluorinados tópicos por más de un mes que han modificado la apariencia habitual del acné.

### **1.3.3.3 DERMATITIS PERIORAL**

Producida por los esteroides tópicos cuya topografía no está limitada a la región peribucal sino que afecta entrecejo, periorbitaria y centrorfacial se caracteriza por pápulas, micropústulas, escamas finas y eritema, pero donde no existen comedones, al parecer son dermatitis seborreicas de inicio con escama fina amarillenta que con los esteroides mudan su apariencia y en los que el *Demodex folliculorum* se encuentra en mayor proporción en los folículos pilosos.

### **1.3.3.4 HIDROSADENITIS O ACNÉ APÓCRINO**

En esta entidad podemos ver clínicamente la asociación de acné con obesidad e hidrosadenitis en la piel cabelluda, nuca, pliegues mamarios, regiones genitales, periné, axilas e ingle, con abscesos, fístulas y la presencia de comedones de cabeza negra y diabetes mellitus tipo II, ha sido denominada por los franceses enfermedad de Verneuil. Los autores sajones han llamado acné inversa a la tríada constituida por hidrosadenitis supurativa, acné conglobata y celulitis disecante de la piel cabelluda o perifoliculitis *capitis abscens et suffodiens*, el acné tétrada además de las entidades descritas antes se asocia una característica más: el seno pilonidal

### **1.3.3.5 NEVO COMEDÓNICO**

Es un nevo del folículo piloso con comedones y elementos inflamatorios, suele ser localizado, lineal y unilateral en la cara, piel cabelluda, cuello, tronco, brazos y pene, se presenta desde el nacimiento aunque su expresión es más tardía.

### **1.3.3.6 ACNÉ POR FÁRMACOS**

La testosterona, las gonadotropinas y los esteroides anabolizantes producen o agravan los acnés. Los corticoesteroides y la hormona adrenocorticotrófica producen un acné iatrógeno en pacientes en que se han prescrito corticoides por parálisis facial o enfermedades reumáticas. La isoniacida empeora el acné; el carbonato de litio utilizado en la depresión y otros medicamentos que inducen o mantienen el acné son: ciclosporina

A, la metilprednisolona, yoduros y bromuros, la cobaltoterapia utilizada en el tratamiento de algunas neoplasias, los oxpsoralenos y la radiación ultravioleta (puvaterapia).

### **1.3.3.7 ACNÉ POR ACEITES. ELAIOCONIOSIS**

Los aceites de corte utilizados en la industria en el proceso de manufacturas de los metales y algunos polvos metálicos y aceites causan una obstrucción con pápulas y pústulas y se observan también numerosos comedones de cabeza negra, en mecánicos y en obreros en las zonas expuestas al aceite como brazos, antebrazos, tronco en su cara anterior, abdomen y muslos, mejoran durante los períodos vacacionales y pueden curar al mejorar las condiciones higiénicas en el trabajo al bañarse, al salir del empleo, el uso de ropa protectora, la indicación del peróxido de benzoilo, la vitamina A ácida tópica o en lociones con urea al 20 ó 30% una ó 2 veces al día, pueden derivar al cambio de área laboral con la desaparición definitiva de las lesiones al no estar expuesto el obrero a los agentes agresores.

### **1.3.3.8 ACNÉ INDUSTRIAL. CLORACNÉ**

Los obreros de fábricas donde se manejan clordifenil óxidos, clornafatalenos, bifenidos o hidrocarburos polihalogenados y las dibenzofenonas polihalogenadas o por contaminantes de policlorofeno pueden llegar a tener este cuadro cuya topografía es muy característica: Retroauricular, frente, mejillas en las regiones malares y cuello en sus caras laterales y la nuca, en la espalda, glúteos, el escroto y el pene con comedones de cabeza negra, quistes pequeños y abscesos que al involucionar dejan cicatrices y pueden asociarse con una melanosis difusa de color café oscuro o grisácea, hipertrichosis o hiperqueratosis folicular, lesiones hepáticas con alteraciones de las pruebas funcionales. En los casos con grave intoxicación hay conjuntivitis, hígado graso, hipertrigliceridemia, anormalidades pulmonares, neurológicas y carcinogénesis.

### **1.3.3.9 ACNÉ POR DIESEL**

Este hidrocarburo utilizado en las rampas del lavado de autos produce en mecánicos, choferes y obreros que trabajan con diesel un acné con comedones de cabeza negra,

quistes y abscesos en la cara, tronco por su superficie anterior, brazos, antebrazos y muslos en las partes expuestas, en ocasiones se asocia a una melanosis oscura café o grisácea y alteraciones hepáticas graves, cuadros psicóticos con delirio transitorios y anomalías neurológicas.

En la parte más polar del espectro se encuentran los acné con afección osteoarticular y ataque sistémico.

#### **1.3.3.10 ACNÉ FULMINANTE.**

Se presenta en quince y veinteañeros, en la cara y el cuello, predomina en el tronco, en el tórax anterior y posterior, hombros, caracterizado por pústulas, úlceras circulares u ovals en sacabocado, con una secreción de aspecto gelatinoso amarillenta o rojiza y necrosis, muy dolorosa (figuras 5 y 6). Se asocia con artralgias y artritis no destructivas, leucocitosis, anemia, aumento de la velocidad de sedimentación globular, pérdida de peso, lesiones osteolíticas en los huesos, adenopatías, mialgias y miositis. El agente causal sigue siendo el *Corynebacterium acnes*, el brote se inicia súbitamente con pústulas que producen úlceras necróticas muy supurativas que dejan costras sanguíneas grandes y cicatrices hipertróficas o queloides.

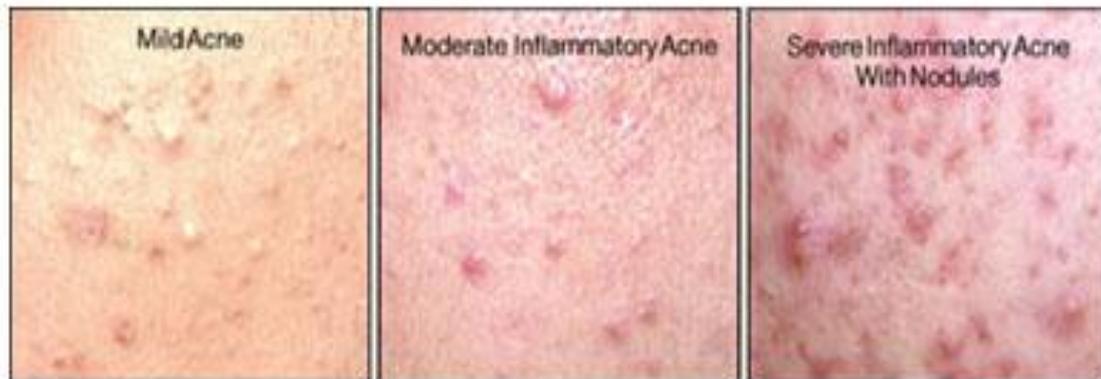
La etiopatogenia es autoinmune dirigida hacia los antígenos cutáneos o bacterianos con una hipersensibilidad tipo IV asociada a fenómeno de Arthus y aumento de testosterona. Las alteraciones sistémicas incluyen hiperactividad de la médula ósea, hematuria microscópica, cultivos cutáneos positivos y hemocultivos negativos, osteólisis, osteoporosis, espondilitis, mialgias y miositis, neuropatía. Se pueden asociar otros cuadros dermatológicos como el pioderma gangrenoso, el eritema nudoso y la acropustulosis. El tratamiento indicado es la prednisona por vía oral 1 mg por kg y por día de inicio y disminución paulatina al mejorar las lesiones, pueden asociarse en la disminución con la sulfona a dosis de 100 mg diarios. Para las úlceras se ha utilizado el curetaje y la urea tópica al 20-30%.

El uso de la isotretinoína por vía oral a dosis de 1-2 mg por kg y por día es controvertido, hay casos publicados en la literatura mundial de acné que han terminado en acné fulminantes, sin embargo algunos autores defienden su uso. (10)

**TABLA 1. ESCALA DE SEVERIDAD DEL ACNÉ INFLAMATORIO SEGÚN AAD**

GRAVEDAD	PÁPULAS	NÓDULOS
Leve	Pocas o varias (<10)	
Moderado	Pocas o bastantes (10-20)	Pocas o varias (<10)
Severo	Numerosas y/o extensas (>20)	bastantes (>10)

Fuente: SÁNCHEZ A, GÓMEZ P, 2000. Bases para la atención farmacéutica del acné vulgar. Ediciones Díaz de Santos, pp. 27



**FOTOGRAFÍA 1: TIPO DE ACNÉ SEGÚN SU GRADO DE SEVERIDAD (17)**

### 1.3.4 SÍNTOMAS

El acné aparece comúnmente en la cara y en los hombros, pero también puede darse en el tronco, los brazos, las piernas y los glúteos.

- Espinillas negras
- Formación de costras de erupciones de la piel

- Quistes
- Pápulas (protuberancias rojas y pequeñas)
- Pústulas
- Enrojecimiento alrededor de las erupciones de piel
- Cicatrización de la piel (8)

#### **1.4 PLANTAS MEDICINALES.**

La etnobotánica trata del conocimiento botánico de las plantas por parte de las comunidades indígenas y comprende una estrecha relación entre las plantas y las personas que la utilizan.

Como planta medicinal se conoce a cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para la síntesis químico-farmacéutica. En la actualidad las plantas medicinales deben ostentar las consideraciones legales para la elaboración de los medicamentos. (12)

##### **1.4.1 EXTRACTOS**

La USP. Define a los extractos como preparados concentrados de drogas vegetales o animales obtenidos mediante remoción de los constituyentes activos de las respectivas drogas con menstros apropiados, evaporación de todo el disolvente y ajuste de las masas o polvo residuales de acuerdo con las normas prescritas. Se conocen tres formas de extractos semilíquidos o líquidos de consistencia melosa, masas plásticas conocidas como extractos sólidos y polvos secos, conocidos como extractos en polvo. (16)

##### **1.4.1.1 EXTRACTOS BOTÁNICOS PARA FINES FARMACÉUTICOS**

Los extractos de plantas medicinales se utilizan por el hombre desde la antigüedad para la cura de múltiples dolencias. Se obtienen mediante la separación de porciones

biológicamente activas presentes en los tejidos de plantas, con el uso de un solvente (alcohol, agua, mezcla de estos u otro solvente selectivo) y un proceso de extracción adecuado.

Para la industria farmacéutica las plantas medicinales son una fuente de nuevas moléculas con efectos farmacológicos, que son utilizables directamente y que permiten obtener productos farmacéuticos con menores efectos secundarios y satisfacer las necesidades crecientes del uso de productos naturales



**FIGURA 2. PROCESO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS A PARTIR DE PLANTAS MEDICINALES**

Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos66/extractos-plantas-medicinales/extractos-plantas-medicinales.shtml>

#### **1.4.1.2 MATERIA PRIMA VEGETAL PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS**

Uno de los aspectos más importantes en la producción de extractos medicinales es garantizar altos rendimientos del material vegetal y elevado contenido de principios activos, lo que depende entre otros aspectos de:

- Elección adecuada del material vegetal (por su empleo tradicional o validación científica de su uso).

- Factores precosecha: disponibilidad de la especie, factibilidad del cultivo, lugar y época de cultivo e identificación botánica.
- Factores postcosecha: selección, secado, molinado y almacenaje.

Las condiciones de cosecha y procesamiento influyen en la cantidad final de metabolitos recuperables del tejido de las plantas. Se debe conocer la parte de la planta a cosechar, la época y la forma de corte.

**TABLA 2. ÉPOCA ÓPTIMA PARA COSECHA DE PLANTAS**

PARTE DE LA PLANTA	ÉPOCA DE COSECHA
Hojas	Fase más activa de la <u>fotosíntesis</u>
Frutos	Cuando están totalmente desarrollados
Flores	Estado de botón floral
Raíces	Cuando están bien desarrolladas
Cortezas	En primavera, evitando períodos de lluvias intensas

Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos66/extractos-plantas-medicinales/extractos-plantas-medicinales.shtml>

Del manejo postcosecha dependerá en gran medida que el material mantenga y conserve las características físicas, químicas, organolépticas y farmacológicas.

El material fresco debe ser inmediatamente bien manipulado de forma que no se deteriore, desechando partes manchadas o enfermas de la planta, así como realizar el lavado con agua corriente de ser necesario.

Por regla general se recomienda secar el material vegetal antes del molinado lo que evita el riesgo de contaminación por hongos. Rivero (2002) evaluó la influencia de la preparación de la materia prima vegetal en el rendimiento del proceso de extracción, concluyendo que el molinado del material después del secado permitió obtener un tamaño de partículas más pequeño y homogéneo, lo que favoreció la unión de las células con el solvente al existir mayor superficie de contacto entre éste y el material vegetal (14)

### **1.4.1.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN**

La extracción sólido-líquido es una operación que está presente prácticamente en todos los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y médico-farmacéutica; dentro de ésta, los métodos de extracción por maceración y la percolación o lixiviación son los más utilizados.

#### ▪ **MACERACIÓN**

El material crudo previamente triturado se pone en contacto duradero con cantidad suficiente de solvente, en un tanque cerrado a temperatura ambiente durante 2-14 días hasta el agotamiento de la droga vegetal. Puede utilizarse agitación. Posterior a este tiempo la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto.

#### ▪ **PERCOLACIÓN O LIXIVIACIÓN**

El material crudo previamente triturado se pone en contacto con cantidad suficiente de solvente de forma tal que el solvente cubra la capa de sólido en el tanque percolador con alcohol de 96°. Se abre el orificio de salida y se deja salir el percolado.

El solvente se renueva de modo continuo manteniéndose un gradiente de concentración, el disolvente puro desplaza al que contiene la sustancia extraída sin ser necesario aplicar presión. La droga residual es prensada y el fluido obtenido es combinado con el percolado para concentrar el extracto.

### **1.4.1.4 CLASIFICACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES**

Dependiendo del grado de concentración de los extractivos, los extractos pueden clasificarse en:

-Extractos fluidos o líquidos

-Extractos semisólidos o blandos

-Extractos secos (15)

#### **1.4.1.5 EXTRACTOS FLUIDOS.**

La USP. Los define como unos preparados líquidos de drogas vegetales que contienen alcohol como disolvente y/o conservador, de modo que cada mL Contiene los constituyentes terapéuticos de 1g de la droga estándar que representa. Los extractos fluidos farmacopéicos se preparan mediante percolación. (16)

#### **1.4.1.6 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS**

Es importante establecer los parámetros de extracción para lograr la estandarización del proceso, esto garantizará la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto medicina, por ejemplo:

-naturaleza química de la materia prima vegetal: conocer las características del metabolito o compuesto químico a extraer.

-selección del solvente: definir la selectividad del solvente a emplear, el solvente óptimo será el que logre extraer un mayor rendimiento del compuesto de interés.

-relación sólido-líquido: la proporción más conveniente de trabajo será aquella con la que se alcancen los mayores rendimientos de extracción.

-tamaño de partícula del sólido: de la forma y dimensión de los sólidos depende en gran medida el éxito de la lixiviación, a menor tamaño de partícula, mayor superficie de contacto entre la droga y el disolvente, y por tanto, mayor acceso de los principios activos al medio líquido; no obstante, tamaños de partícula muy pequeños conducen a la formación de polvos demasiado finos, que pueden causar problemas en el proceso de extracción.

-temperatura: el aumento de la temperatura favorece la extracción, hay que prestar especial atención cuando la sustancia de interés es termolábil o el menstruo es volátil,

además, temperaturas elevadas pueden conducir a lixiviar cantidades excesivas de solutos indeseables.

-Velocidad de agitación y tiempo de extracción: los óptimos valores de estos parámetros serán aquellos que logren extraer un mayor rendimiento del producto. A mayor tiempo de contacto, mayor capacidad tendrá el disolvente para alcanzar el equilibrio de concentraciones.

-Viscosidad del medio: no deben seleccionarse solventes de viscosidad relativamente alta.

El extracto vegetal obtenido se debe caracterizar en cuanto a: sustancias activas y marcadores, densidad, solventes residuales, sólidos totales, pH, control microbiológico y volumen total.

#### **1.4.1.6.1 LA SEPARACIÓN SÓLIDO LÍQUIDO.**

La separación sólido-líquido se realiza con el objetivo de retirar el residuo de la droga después de la extracción. En la actualidad prácticamente en todos los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y médico-farmacéutica se incluyen etapas de separación sólido-líquido sobre las cuales recae una gran importancia técnico-económica.

La selección de un separador con este fin es una tarea mucho más compleja que la selección de otros equipamientos utilizados en los procesos tecnológicos. En la industria se emplean procedimientos de sedimentación, filtración (filtro nutche, prensa) o centrifugación.

Para la selección del equipo de separación adecuado hay que tener en cuenta el tipo de separación, tamaño de las partículas de los sólidos suspendidos, contenido de sólidos en la alimentación, densidad relativa de los componentes, capacidad de procesamiento deseado y capacidad abrasiva, inflamable o explosiva. (15)

#### **1.4.1.7 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS POR PERCOLACIÓN.**

En el procedimiento general para la obtención de extractos, utilizando un percolador (recipiente cónico abierto en ambos lados), los componentes sólidos se humedecen con una cantidad apropiada del menstruo especificado y se dejan en reposo unas 4 horas en un recipiente bien cerrado, después de lo cual se carga esta masa en el percolador. Se agrega suficiente menstruo para saturar la masa y se cubre el tope del percolador.

Cuando el líquido está por gotear del cuello (base), se abre la salida del percolador y se deja salir el líquido. A continuación se agrega suficiente menstruo para obtener el volumen requerido. El líquido mezclado se clarifica mediante filtración o dejándolo en reposo y decantando después. (16)

#### **1.4.1.8 CONCENTRACIÓN DE EXTRACTOS**

Toda vez que se ha realizado la etapa de extracción y separación, se procede a eliminar parte del solvente de extracción para aumentar el contenido de sólidos en el extracto. Este proceso se realiza a presión reducida con lo que se disminuye la temperatura de calentamiento necesaria para la salida del solvente, el rotavapor es una buena alternativa para trabajos en el laboratorio y es ampliamente usado mientras que sistemas análogos se utilizan a escala industrial (evaporadores, condensadores).

También pueden utilizarse métodos de precipitación del principio activo, combinados con etapas de filtración, extracción líquido-líquido, entre otras.

##### **1.4.1.8.1 SECADO**

Para preservar los componentes naturales presentes en los extractos de plantas, se emplean métodos de secado para su obtención en forma de polvos. Estos pueden ser secados por atomización y lecho fluidizado fundamentalmente. En estos procesos es muy importante evaluar las variables: concentración de sólidos, temperatura de secado,

humedad, presión, flujo y velocidad de trabajo, así como la utilización de aditivos inertes como coadyuvantes del secado para favorecer el rendimiento. (15)

## **1.5 CONTROL DE CALIDAD**

El concepto actual de calidad difiere notablemente del que existía hace unas décadas. Entonces se buscaba sobretodo controles de calidad en las distintas fases de elaboración de formas farmacéuticas: control de materias primas y materiales de acondicionamiento, control en proceso y control en producto terminado. Si los diferentes controles de calidad resultaban correctos, se estimaba que la calidad del producto final era aceptable.

Hoy en día se considera que el sistema de control de calidad, por etapas ó sectorial, no es suficiente y lo que se intenta aplicar es el concepto de "**garantía de calidad**".

Este concepto abarca, además de los controles de calidad básicos, ya mencionados, el concepto de operar de acuerdo a unas normas que disminuyan el riesgo de errores en la elaboración de medicamentos, y garantizar la obtención de un producto final con la calidad prevista durante el tiempo de validez establecido en el material de acondicionamiento

Como conclusión, podemos decir que la garantía de calidad se puede definir como "la suma total de actividades organizadas con el objeto de garantizar que los medicamentos posean la calidad requerida para su uso previsto". Este sistema sustituye al concepto antiguo que suponía que la calidad era competencia únicamente del servicio de control de calidad del laboratorio farmacéutico. El objetivo del sistema de garantía de calidad es conseguir que todo salga bien desde el principio, con la ayuda de todo el personal que participa en las distintas fases de consecución de un producto farmacéutico.

Para conseguir un adecuado aseguramiento de la calidad, se han establecido unas normas que ya están vigentes en la industria farmacéutica a nivel ministerio, con la denominación en España de "Normas de Correcta Fabricación" (N.C.F.) y que tienen carácter obligatorio. A nivel de la Oficina de Farmacia se han establecido las denominadas "Normas de Correcta Fabricación de Fórmulas Magistrales y Preparados

Oficinales", que de momento tienen el carácter de recomendación con el fin de que el farmacéutico formulador se vaya adaptando progresivamente a una forma de operar homogénea para que al conseguir la mayor calidad posible en la elaboración de formulaciones magistrales y oficinales, cumplir con el mandato de la Ley del Medicamento. (13)

## 1.6 CALAGUALA



FOTOGRAFÍA 2: RIZOMA DE PLANTA DE CALAGUALA (*Campyloneurum amphostenon*).

Fuente:

<http://www.google.com.ec/imgres?q=calaguala&hl=es&sa=G&gbv=2&biw=1024&bih=596&tbn=isch&tbnid=j5Az-5lmETs1NM:&imgrefurl>

### SINÓNIMOS

Calaguala, helechos, samambaia, *Polipodiáceas*, *Polipodium cámbrico*, *Hierba del lagarto*, *Polipodio común*, calagualina.

### 1.6.1 CLASIFICACIÓN BOTÁNICA DE *C. amphostenon*.

CUADRO No. 1 CLASIFICACIÓN BOTÁNICA DE *C. amphostenon*

Reino	Filo	Clase	Orden	Familia	Género	Especie
Plantae	Pteridophyta	Pteropsida	Filicales	Polypodiaceae	<i>Campyloneurum</i>	<i>amphostenon</i>

### 1.6.2 DESCRIPCIÓN DE LA CALAGUALA

Su nombre proviene de la combinación de vocablos griegos, polys (muchos) y Podo (pie) La *Campyloneurum amphostenon* (Calaguala) puede ser considerada como uno de los helechos de mayor importancia en la Fitofarmacología moderna.

Planta de la familia de las Polipodiáceas que no crece en la tierra sino muy rara vez, medrando en la corteza y ramas de otros vegetales o en rocas. Consta de un rizoma rastrero y escamoso, delgado el cual tiene un sabor dulce-agrio, sin olor del que salen hojas densas, glabras verdes sobre tallos color café.

Las hojas son ovado oblongas de 30 a 120 cm. de largo y de 20 a 40 cm. de ancho.

La calaguala es nativa de Centroamérica y su territorio se extiende desde México a Sudamérica. El hábitat preferido por la calaguala son los bosques y zonas montañosas, donde suele crecer en rocas.

La calaguala contiene en su composición mucílago, en cantidad algo menor, resina roja, amarga y acre, también bastante abundante, sustancia que parece almidón, materia colorante, muy poco ácido málico, mucha sal de comer, cal y ácido silícico.

Con fines medicinales se recogen las raíces. La calaguala contiene glucósidos de saponinas, osaldina (compuesto que le da sabor dulce), flavonoides, derivados de floroglucina, además de otras sustancias como aceites esenciales, taninos, etc.

Los principios activos responsables de su acción farmacológico han sido identificados y su estructura química ha sido determinada demostrando que tienen una estructura antraquinónica y que contiene fracciones polisacáridas con cadenas laterales unidas al anillo bencénico por lo que se podría considerar los principios activos contenidos en la Calaguala como precursores de algunos corticosteroides lo que explicaría su significativa acción antiinflamatoria.

Además, contiene aldehídos aromáticos, posiblemente del grupo del cinámico a los cuales se debe el agradable aroma que despiden sus hojas, especialmente durante la noche.

Se utiliza en el tratamiento de numerosas enfermedades de la piel, incluyendo psoriasis, eccemas atópicos, infecciones por herpes virus, vitíligo, y estomatitis aftosa recidivante.

### **1.6.3 ESTUDIOS QUÍMICOS**

Los rizomas de la Calaguala han sido extraídos con éter y etanol. Del extracto etanólico se han aislado dos fracciones principales:

**1. —Calagualina.-** Un glucósido, que según estudios hidrolíticos tiene 3 sustancias, 2 azúcares y un aglicón. El aglicón tiene un grupo cetónico que da una dinitrofenilhidrazona en frío de color rojo ladrillo. Los estudios metabólicos se han limitado hasta ahora a la calagualina misma y a sus productos de hidrólisis; los estudios clínicos, se han limitado a la calagualina misma.

**2. —**De las aguas madres del extracto etanólico se han aislado tres sustancias, dos sólidas y un aceite. La combinación de estas tres se llama la fracción CP5. No se han hecho estudios metabólicos ni clínicos con esta fracción todavía.

Las características químicas de estas tres sustancias hablan en favor de su naturaleza terpénica.

### **1.6.4 ESTUDIOS METABÓLICOS CON CALAGUALINA**

**1. —**Reduce la incorporación del ácido orótico 6-C y de la L-valina-C-14 U.M. en cortes tumorales humanos in vitro.

**2. —**Reduce la conversión de la glucosa-C14 U.M. en proteínas, lípidos y CO<sub>2</sub> en cortes tumorales humanos in vitro.

**3. —**Reduce la producción de CO<sub>2</sub> a partir de la glucosa-1-C14, glucosa-6-C14, piruvato y acetato-1-C-14 en cortes tumorales humanos in vitro.

4.—Aumenta la incorporación de la L-valina-C14 U.M. en proteínas del cerebro, hígado, riñón, bazo y músculo en la rata normal in vivo, después de 40 minutos de una inyección intraperitoneal.

5. —Aumenta la tasa del DNA y RNA hepático in vivo en ratas normales al inyectar 0.1 mg/g de peso diariamente, durante 8 días.

6. —Aumenta la tasa de RNA 48 horas después de una hepatectomía parcial, una hora después de inyectar 1 mg/g intraperitonealmente en ratas normales.

### **1.6.5 ESTUDIOS CLÍNICOS CON LA CALAGUALINA**

- Excreción renal
- Enfermedades malignas
- Psoriasis generalizada
- Cirrosis hepática
- Lupus eritematoso
- Adenocarcinomas
- Leucemias
- Basaliomas
- Fibrosarcoma

### **1.6.6 EFECTOS FÁRMACO-TERAPÉUTICOS**

Los rizomas han mostrado propiedad anti-inflamatoria e insumo reguladora. Se ha comprobado su eficacia en el tratamiento de la presión alta, afecciones renales y artritis reumatoidea, ya que ayuda a eliminar las impurezas, a través de la orina. Además se consideran un laxante suave, que ayuda a resolver problemas de estreñimiento. Ayuda a

bajar la fiebre en enfermedades eruptivas. A descongestionar los bronquios de flemas y reducir el dolor de pecho. (17, 18,19)

### **1.6.7 CONSTITUYENTES QUÍMICOS DE LAS CALAGUALAS**

Alonso refiriéndose al rizoma de *Polypodium leucotomos* Poir, menciona que posee los esteroides ecdisterona y ecdisonas (como la polipodoaureína). La  $\alpha$  ecdisona se aisló inicialmente del gusano de seda. También posee saponinas como la Calagualina y las Polipodinas A y B; mucílago, oleorresina, nitrato de potasio, osladina y almidones. En el Vademécum Nacional de Plantas Medicinales de Guatemala se menciona que del rizoma de *Phlebodium pseudoaureum* se aisló adenosina y que además posee azúcares. Cáceres et, al menciona además para *P .decumanum*: flavonoides, triterpenos y almidón en rizomas; expresa que la composición de rizomas coincide con la de las hojas. (30,31)



## **CAPÍTULO II**

### **2. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN**

La presente investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

#### **2.2 MATERIALES EQUIPOS Y REACTIVOS.**

##### **2.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO**

- Un kilo de planta seca y pulverizada de calaguala (*Campyloneurum amphostenon*). La materia prima fue adquirida en Jambi Kiwa
- 40 Pacientes voluntarios con acné

##### **2.2.2 MATERIALES**

- Vasos de precipitación
- Pipetas de 2, 5,10 mL

- Cápsulas de porcelana.
- Espátula
- Probetas
- Equipo de reflujo.
- Balones aforados de 25, 100 mL.
- Cajas petri de vidrio
- Asa de platino
- Erlenmeyer
- Tubos de ensayo
- Embudo
- Lámpara de alcohol
- Reverbero eléctrico
- Trípode
- Papel filtro
- Rollo de algodón
- Rollo de papel aluminio

### **2.2.3 EQUIPOS**

- Equipo de percolación
- Rotavapor THERMO

- Auto clave
- Balanza analítica SCIENTECH
- Estufa MEMMERT
- Mufla SNOL
- Reverbero
- Potenciómetro HANNA
- Desecador
- Refractómetro
- UV
- Espectrofotómetro
- Densímetro SELECTA

#### **2.2.4 REACTIVOS**

- Agua destilada.
- Solución de clorhidrato de hidroxilamina.
- Tartrato de sodio y potasio.
- Solución de ditizona.
- Metanol.
- Ácido Clorhídrico 10% y 20%
- Hidróxido de Sodio 20%

- Peróxido de Hidrógeno 30%
- Etanol al 50 y 96%.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Reactivos específicos para la marcha fitoquímica.
- Agáres para cada determinación de patógenos.

## **2.3 METODOLOGÍA**

### **2.3.1 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA ESPECIE VEGETAL.**

El control de calidad de la droga se lo realizó considerando las metodologías de la OMS, y demás organismos encargados de asegurar la calidad de los productos fitofarmacéuticos.

Para el control de calidad de la droga cruda se realizan las siguientes pruebas:

- Determinación de la humedad
- Cenizas totales
- Cenizas solubles en agua
- Cenizas insolubles en ácido clorhídrico
- Determinación de sustancias solubles
- Determinación de microorganismos

#### **2.3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD**

De la muestra pulverizada se pesan 2g con desviación permisible de 0.5 mg. y se transfieren a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105 °C hasta

masa constante; seguidamente se deseca a 105 °C. Durante 3 h00. La cápsula se coloca en el desecador donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1h., volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.

Expresión de los resultados.

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

% H = Pérdida en peso por desecación (%).

M2 = Masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g.)

M1 = Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g.)

M = Masa de la cápsula vacía.

100 = Factor matemático. (25)

### **2.3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES**

Se determina la masa de 2.0 g. de la muestra de ensayo con una variación permisible de 0.5 mg. en un crisol de porcelana previamente tarado. Calentar suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y luego incinerar en un horno mufla a temperaturas de 700 a 750 °C. Durante 2h.

Se enfría el crisol en un desecador y se pesa, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0.5 mg. por g. (masa constante). Para obtener masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco.

Expresión de los resultados:

$$\%C_T = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

%CT = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = masa del crisol vacío (g).

M<sub>1</sub> = masa del crisol con la porción de ensayo (g).

M<sub>2</sub> = masa del crisol con la ceniza (g).

100 = factor matemático para los cálculos. (25)

### **2.3.1.3 DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA.**

A las cenizas totales obtenidas según el apartado anterior, se le añaden de 15 a 20 mL. de agua. El crisol se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5 min. La solución se filtra a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere al crisol inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en un horno mufla de 700-750 °C., durante 2h. Posteriormente se coloca en un desecador y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Expresión de los resultados.

$$\%C_A = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} \times 100$$

%CA = Porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M<sub>2</sub> = Masa del crisol con las cenizas totales (g).

M<sub>a</sub> = Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g).

M<sub>1</sub> = Masa del crisol con la muestra de ensayo (g).

M = Masa del crisol vacío.

100 = Factor matemático. (25)

#### **2.3.1.4 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO**

A las cenizas totales obtenidas según la técnica se le añaden de 2-3 mL de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviente durante 10 min. Se lava el vidrio reloj con 5 mL de agua caliente y se une al contenido del crisol. La solución se filtra a través de un papel de filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1M. No muestre presencia de cloruros.

El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 105 °C., se transfiere al crisol inicial y se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700-750 °C durante 2h00. Posteriormente se coloca en un desecador y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante.

Expresión de los resultados:

$$\%C_I = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

%CI= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M = masa del crisol con la porción de ensayos (g.)

M2= masa del crisol con la ceniza (g.)

100= factor matemático. (25)

### **2.3.1.5 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES**

De la muestra de ensayo previamente pulverizada y tamizada se pesa 5 g y se transfiere a un frasco cónico con tapa con capacidad de 250 mL. Se añade 100 mL de agua y se agita constantemente durante 6 horas. Dejar en reposo 24 horas, luego se agita 30 min y se filtra por papel. Se toma una alícuota de 20 mL, se transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada, evaporar sobre baño de agua, se deseca en estufa a 105 °C, durante 3 horas, se enfría en un desecador y se pesa. El ensayo se realiza por triplicado.

Expresión de los resultados.

$$\%S_s = \frac{R \times 500 \times 100}{M \times (100 - H)}$$

%S<sub>s</sub> = porcentaje de sustancias solubles en base hidratada.

H = Humedad de la muestra en %

R = Residuo de la muestra (g.)

M = Masa de la muestra de ensayo (g).

100 y 500 = factor matemático para los cálculos.

### **2.3.1.6 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICA DEL MARCADOR QUÍMICO: FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADO COMO PORCENTAJE DE QUERCETINA.**

- Mezclar 1 gramo de droga en polvo con 10 mL de metanol por 5 minutos en un baño de agua (60°C)
- Tomar 5 mL de la solución metabólica y concentrar hasta obtener 2 mL.
- Colocar 1 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo, agitar por 10 minutos.

- Separar la fase de etilacetato y concentrar hasta obtener un volumen de 1 mL.
- Usar el concentrado para la cromatografía.
- Se aplica 10µL del concentrado en una placa cromatografía de sílica gel 60 F254 con la ayuda de un capilar.
- Dejar secar después de cada aplicación.
- Se introduce la placa en la cuba cromatográfica, hasta que el solvente recorra las  $\frac{3}{4}$  partes de la placa.
- Retirar de la cuba y dejar secar para luego observar en la lámpara UV 365 nm,
- Revelar la placa y dejar secar, calentar en la estufa y anotar los Rf.

**Adsorbente:** Sílica gel 60 F254 (Merck)

**Sistema de solventes:** acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial, agua en proporción 100:11:11:26

**Revelado:** Sulfato de Cerio

**CÁLCULO:**

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

### **2.3.1.7 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES.**

**Para droga seca y para producto final:**

- Se pesa 1g de muestra comprimidos y colocamos en un balón redondo de 250 mL.

- Añadir 20 mL. de etanol al 50 % y 8 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- Reflujar por dos horas en baño de agua.
- Dejar enfriar y filtrar a través de filtro Buchner, utilizando papel de filtración
- Lavar el residuo con 10 mL de etanol al 50% para desecharlo finalmente.
- El filtrado se evapora en baño de agua hasta la mitad del volumen inicial.
- Enfriar sobre un baño de agua fría durante 30 min.
- Filtrar, el papel con el residuo se lava con 70 mL de etanol al 96% caliente a 50 °C
- Se trasvasa a un balón volumétrico de 100 mL y se afora con etanol al 96%.
- Tomar una alícuota de 2 mL y llevar a un balón de 25 mL aforar con etanol al 96%
- Determinar la absorbancia a 258 nm.
- Como patrón se emplear 0.04 g. de quercetina, los cuales se debe disolver con etanol al 96% hasta completar un volumen de 50 mL., de esta solución tomar 1 mL y se diluye a 100 mL con etanol al 50%.
- El blanco consistió en una solución de etanol al 50%.

La expresión empleada para el cálculo fue la siguiente:

$$X = \frac{Am \times Pr}{Ar \times Pm} \times D \times 100$$

Donde:

X = Contenido de flavonoides totales expresados como quercetina (%)

Am = Absorbancia de la solución muestra (nm.)

Pr = Peso de la sustancia de referencia (g.)

Ar = Absorbancia de la solución de referencia (nm.).

Pm= Peso de la muestra

D= Diluciones

## **2.3.2 DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN LA DROGA CRUDA.**

### **2.3.2.1 MÉTODO DE CONTEO DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES EN PLACA.**

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de  $10^{-1}$
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de  $10^{-2}$ . De este modo realizar otras diluciones.
- Se preparan tubos de ensayo tapa rosca con 15 mL de medio de cultivo PCA (Plate count agar).
- A cada tubo con agar se adiciona 1 mL de la dilución preparada en el agua peptonada al 0.1%.
- Homogenizar en un vortex, y el contenido de cada tubo verter en cajas petri.
- Incubar a  $35\pm 2$  °C por 48 horas.
- Transcurrido este tiempo, realizar la lectura.

Contar las colonias que se desarrollan y se anota el resultado de las placas con mayor número de colonias. (7)

### **2.3.2.2 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES.**

#### **a) PRUEBA PRESUNTIVA.**

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar. De este modo se obtiene una dilución de  $10^{-1}$
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL. y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de  $10^{-2}$ .
- Colocar 1 mL de cada una de las diluciones en 10 mL de caldo lactosado.
- Incubar por 24-48 h. a  $35 \pm 2$  °C.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).

#### **b) PRUEBA CONFIRMATORIA.**

- De los tubos positivos en caldo lactosado tomar 2 o 3 asadas y sembrar en tubos
- 10 mL de caldo BRILLA.
- Incubar por 24-48 h. a  $35 \pm 2$  °C.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).
- Los resultados se interpretaron según la tabla de NMP.

**TABLA NO. 3 TABLA UTILIZADA PARA LA INTERPRETACIÓN DEL NMP PARA LA DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES.**

COMBINACIÓN DE TUBOS	NMP	COMBINACIÓN DE TUBOS	NMP
0-0-0	<3	3-0-0	23
0-0-1	3	3-0-1	39
0-1-0	3	3-0-2	64
1-0-0	4	3-1-0	43
1-0-1	7	3-1-1	75
1-1-0	7	3-1-2	120
1-1-1	11	3-2-0	93
1-2-0	11	3-2-1	150
2-0-0	9	3-2-2	210
2-0-10	14	3-3-0	240
2-1-0	15	3-3-1	260
2-1-1	20	3-3-2	1100
2-2-0	21	3-3-3	>2400

Fuente: Cáceres, Armando. Control de Calidad Microbiológico de Materia Prima y Productos Fitofarmacéuticos. Farmaya. Guatemala.

El número de microorganismos aceptados para este tipo de material es:

Para Coliformes totales:

0-100 NMP/g. ACEPTABLE.

100-460 NMP/g. REGULAR ACEPTABLE.

> 460 NMP/g. INACEPTABLE/RECHAZADO.

Para Coliformes fecales:

< De 10 NMP/g. ACEPTABLE.

> DE 10 NMP/g. RECHAZADO.

### **2.3.2.3. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES.**

#### **a). PRUEBA PRESUNTIVA.**

Se procede de igual forma que en la prueba presuntiva para Coliformes totales.

#### **b). PRUEBA CONFIRMATORIA.**

- De los tubos positivos en caldo lactosado tomar 2 ó 3 asadas y sembrar en tubos 10 mL de caldo EC.
- Incubar por 24-48 h a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).
- Los resultados se interpretaron según la tabla de NMP.

### **2.3.2.4. MÉTODO DE CONTEO DE MOHOS EN PLACA.**

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10-1.
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10-2.
- Preparar cajas petri con medio de cultivo OGY.
- Sobre las cajas petri colocar 0.1 mL de las diluciones respectivas y extender mediante un extensor de vidrio.
- Incubar a temperatura ambiente por 5-7 días.

- Realizar el contaje.

El recuento del número de colonias formadas no debe ser mayor de 100 Colonias/caja

### **2.3.3 PREPARACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO FLUIDO**

#### **2.3.3.1 MÉTODO POR PERCOLACIÓN.**

Mézclese cuidadosamente la droga molidas con suficiente cantidad de alcohol de 96° a fin de que quede uniforme y apreciablemente humedecida, déjese en reposo durante 15 minutos transfírase a un percolador apropiado comprímase la droga firmemente . Vierta suficiente cantidad del menstuo de alcohol de 96° para saturar la droga tapase la boca del percolador y cuando el líquido esté a punto de gotear; ciérrase el orificio inferior del percolador y déjese macerar la droga por espacio de 24 horas.

Se abre el orificio de salida y se deja salir el percolado a la vez que se añade más menstuo, estableciendo un flujo de 3-5 mL/minuto hasta obtener una primera fracción de 85% de extracto, los que se guarda en un recipiente.

Se detiene la extracción y con el volumen de menstuo requerido, se macera durante 24 horas y se hace una extracción de 1 L del extracto. Este proceso se repite por segunda vez.

Los últimos 2 L de extracto obtenido se reúne y se concentra a una temperatura que no exceda los 60°C hasta obtener el volumen requerido (15% restante, se prefiere la concentración por vacío).

Este extracto blando se mezcla con la primera fracción obtenida y si fuese necesario se añade menstuo hasta el volumen del extracto fluido. Se deja reposar en un recipiente bien cerrado de la siguiente manera:

De 8-10°C No menos de 4 días.

De 15-20°C 15 días

Temperatura ambiente 30 días.

## **2.3.4 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTOS**

### **2.3.4.1 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA.**

Para esta prueba se tomó una alícuota de 25 mL del extracto y se lo puso en un vaso de precipitación de 50 mL. Para determinar el análisis sensorial de: color, olor, turbidez, aspecto. (25)

### **2.3.4.2 DETERMINACIÓN DEL 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. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

$$\text{pH} = - \log a [\text{H}^+]$$

a [H<sup>+</sup>] = actividad de los iones hidrógeno

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea igual o analógico. Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

Ajuste el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizará la determinación. Posteriormente determínese el valor del pH de la muestra.

### **2.3.4.3 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA.**

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico.

Primeramente pése el picnómetro vacío y secos 2° C y llénese con la porción de ensayo, manténgalo a la temperatura de 25 °C (1°C) durante 15 min. y ajústese el liquido al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro.

Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25 °C, después de limpio el picnómetro.

Expresión del resultado:

La densidad relativa a 25 °C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

$M_1$  = Peso del picnómetro con la muestra (g)

$M_2$  = Peso del picnómetro con la muestra (g)

$M$  = Peso el picnómetro vacío (g)

Los resultados se aproximan hasta la tercera cifra.

### **2.3.4.4 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN.**

Se procedió a medir directamente la muestra en el refractómetro. La fórmula utilizada es la siguiente:

$$n_d^{20} = n^t + 0.00044(T - 20)$$

Donde:

(n) 20: Índice de refracción corregido.

(nT) d: Índice de refracción determinado.

0,00044 y 20: Factores de corrección matemático

T: Temperatura a la que se realiza la lectura.

#### **2.3.4.5 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES**

Transferir a una cápsula previamente tarada, 5 mL de muestra y llevar a baño maría, completar la evaporación en estufa a 105°C. por 3 horas, pesar las cápsulas, y repetir el procedimiento hasta peso constante con intervalos de 30 minutos. Los resultados se expresan en porcentaje de sólidos totales y se reportan en cifras enteras, según fórmula:

$$S_T = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

Donde:

Pr = Masa de la cápsula más el residuo (g).

P = Masa de la cápsula vacía (g).

V = Volumen de la porción de ensayo.

100 = Factor matemático para el cálculo. (25)

### **2.3.4.6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO**

#### **- ENSAYO DE DRAGENDORFF.**

Utilizado para detectar la presencia de alcaloides se debe tomar en cuenta que si el extracto está disuelto en solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si se trata de un extracto acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez).

Para el ensayo, a la solución acuosa ácida se le añade 3 gotas del reactivo de Dragendorff, y se observa:

- Opalescencia: (+)

- Turbidez definida: (++)

- Precipitado: (+++)

#### **- ENSAYO DE MAYER.**

Se procede de la forma descrita previamente. A la solución ácida se le adiciona una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agita y se filtra. Al filtrado adicionar 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer. Tras observación se reporta de la siguiente manera:

- Opalescencia: (+)

- Turbidez definida: (++)

- Precipitado abundante: (+++)

En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos sólo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

**- ENSAYO DE WAGNER.**

Se parte de la solución ácida, de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución, se le adiciona 2 ó 3 gotas del reactivo de Wagner y se reporta los resultados de igual forma que en la reacción anterior.

**- ENSAYO DE BALJET.**

Es útil para reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar resultado positivo. Si la alícuota de la muestra a probar no está en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en 1 mL de alcohol. Seguidamente, se añade 1mL del reactivo. La prueba es positiva, cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo (++ y +++) respectivamente.

**- ENSAYO DE BORNTRAGER.**

Es útil para detectar la presencia de quinonas. Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++) o rojo, para lo cual se reporta (+++).

**- ENSAYO DE LIEBERMAN-BUCHARD.**

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, en ambos tipos de productos debe poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

Para ello, si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL. de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3

gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- Rosado-azul muy rápido.
- Verde intenso-visible aunque rápido.
- Verde oscuro-negro-final de la reacción.

El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos.

Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

La reacción de Liebermann-Burchard es también utilizada para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.

#### **- ENSAYO DE RESINAS.**

Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2 mL. de la solución alcohólica, 10 mL. de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

#### **- ENSAYO DE FEHLING.**

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL. de agua. Se adicionan 2 mL. del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma:

Solución A: Se pesa 35 g. de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelve con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Solución B: Se pesa 150 g. de tartrato de sodio y potasio y 40 g. de hidróxido de sodio y se disuelve con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

#### **- ENSAYO DE ESPUMA.**

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm. de altura y persistente por más de 2 minutos.

#### **- ENSAYO DEL CLORURO FÉRRICO.**

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenóles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.

- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.

- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

**- ENSAYO DE SHINODA.**

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL. de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado.

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.

**- ENSAYO DE GELATINA.**

Sobre el extracto etanólico se añade solución de gelatina (1%) que contiene además NaCl, da la formación de un precipitado de taninos (5).

**- ENSAYO DE PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES.**

El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios bien diferenciados al paladar.

**2.3.5 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES UTILIZADOS EN LA ELABORACIÓN DEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA**

Los excipientes utilizados en la elaboración del gel son los siguientes:

- Carbopol 940
- Trietanolamina
- Dimeticona

**CARBOPOL ---- (USP XXIII- FARMACIA REMINGTON 17AVA EDICIÓN.)**

Es una mezcla de resinas solubles en agua que tienen excelentes propiedades de suspensión; espesamiento y formación de geles. Es muy usada en la industria cosmética. Es blanco y su presentación es un polvo. El alcohol polivinílico, polímeros de óxido de etileno y la polivinilpirrolidona son componentes del carbopol.

Carcomer 940 es un polímero de alto peso molecular una mezcla de ácido acrílico unido con éteres de sacarosa.

Carcomer 940, previamente secado en vacío a 80°C por 1 hora, no contiene menos de 56.0 por ciento y no más de 68.0 por ciento de los grupos de ácidos carboxílicos (-COOH).

**Descripción.-** Polvo blanco. Fino incoloro.

**Identificación.-** Preparar una dispersión 1:100 con NaOH para producir un gel viscoso de pH 7.5.

Preparar una dispersión 1:100 a la una porción añada un azul timol TS y se produce una coloración naranja. Al la otra porción se añade rojo cresol TS y se produce una coloración amarilla.

**Viscosidad.-** Entre 40.000 y 60.000 centipoises.

**Perdida por secado.-** Secar al vacío a 80°C por 1 hora. No más que 2.0% de su peso inicial.

Metales pesados.- Máximo 0.002%.

**Valoración del contenido de ácidos carboxílicos.-** 56.0 – 68.0 % de ácidos carboxílicos.

Pesar 400 mg previamente y adicionar 400 mL de agua con agitación constante a 1000 rpm, en un ángulo de 60°. Continué agitando por 15 minutos. Reduzca la velocidad de la agitación titule potenciométricamente con hidróxido de sodio 0.25N usando un electrodo

de calomel. Después de 1 minuto de mezcla, luego de cada adición de NaOH registre el pH. Calcule el contenido de ácidos carboxílico como % por la siguiente fórmula  $\% = 100 (45.02VN/\text{peso de la muestra})$ .

**Ensayo Microbiológico.-** Ausencia de salmonella y E. Coli.

**TRIETANOLAMINA (TEA) ----- (FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS V EDICIÓN).**

Su nombre químico es 2,2',2" Nitrilotrietanol, Se usa principalmente como detergente, emulsificante y plastificante ya que absorbe fácilmente el agua.

**Descripción.-** Líquido incoloro o amarillo pálido, viscoso e giroscópico que tiene un ligero olor amoniacal. Se forma café por exposición a la luz y aire.

**Solubilidad.-** Miscible con agua y alcohol, soluble en cloroformo y ligeramente soluble en éter o benceno.

**Identificación.-** Calentar 1 mL de la muestra lentamente en un tubo de ensayo los vapores cambian el color del papel tornasol rojo a azul. Mezclar 1 mL de la muestra con 1 mL HCl la temperatura de fusión del precipitado obtenido después de lavarlo con alcohol y secarlo es de 178°C aproximadamente.

**Gravedad específica.-** Entre 1.120 y 1.128.

**Índice de refracción.-** Entre 1.482 y 1.485.

**Residuo de Ignición.-** No más de 0.1%.

**Valoración.-** Para trietanolamina  $C_6H_{15}NO_3$  mezclar 500 mg de la muestra con 5 mL de solución 2M de HCl evaporar a sequedad en BM. Agitar el residuo 2 propanol pasar a un crisol de vidrio sinterizado tarado y lavar el disco y residuo con 3 porciones de 5 mL de 2-propanol. Secar el residuo a 105°C hasta peso constante y agregar una corrección de

0.2 mg por mL de propanol empleado. Cada gramo es equivalente a 803.5 mg de C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub> (trietanolamina).

### 2.3.6 DETERMINACIÓN DE LAS CANTIDADES Y TIPOS DE EXCIPIENTES ADECUADOS PARA LA FORMULACIÓN DEL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA

Para la preparación de un lote de 1L de Gel al 20%

**TABLA 4: FORMULACIÓN DEL GEL ANTIACNÉ DE CALAGUALA AL 20%**

INGREDIENTE	CANTIDAD	UNIDAD
Extracto de Calaguala	200	mL
Carbopol 940	23	g
Trietanolamina	27	g
Dimeticona	10	g
Agua purificada	740	mL

Para la preparación de un lote de 1L de Gel al 30%

**TABLA 5: FORMULACIÓN DEL GEL ANTIACNÉ DE CALAGUALA AL 30%**

INGREDIENTE	CANTIDAD	UNIDAD
Extracto de Calaguala	300	mL
Carbopol 940	23	g
Trietanolamina	27	g
Dimeticona	10	g
Agua purificada	640	mL

Para la preparación de un lote de 1L de Gel al 40%

**TABLA 6: FORMULACIÓN DEL GEL ANTIACNÉ DE CALAGUALA AL 40%**

INGREDIENTE	CANTIDAD	UNIDAD
Extracto de Calaguala	400	mL
Carbopol 940	23	g

<b>Trietanolamina</b>	27	g
<b>Dimeticona</b>	10	g
<b>Agua purificada</b>	540	mL

### **2.3.7 PREPARACIÓN DEL GEL**

1. En frío se mezcla agua purificada con el carbopol. Agitar hasta que esté homogéneo.
2. Dejar reposar 12h
3. Añadir Dimeticona agitando
4. Agregar TEA y agitar bien.
5. Añadir el extracto agitando hasta que la mezcla este uniforme.

### **2.3.8 PROTOCOLO DE ADMINISTRACIÓN DEL PRODUCTO A LOS PACIENTES VOLUNTARIOS CON ACNÉ**

- ❖ Charlas de capacitación con respecto al acné y sus causas, sobre el producto y su uso adecuado
- ❖ Selección de los voluntarios de acuerdo al tipo de acné que poseen
- ❖ Aplicación del gel antiacné a diferentes concentraciones a base de Calaguala en 30 voluntarios y el gel placebo en 10 voluntarios.
- ❖ Para la aplicación debe el paciente debe tener su piel bien limpia para lo cual se recomienda lavar la cara con agua y jabón para piel grasosa
- ❖ Se lava bien las manos para aplicarse el gel
- ❖ Se toma una cantidad adecuada con el dedo medio e índice y se coloca en la zona T en forma circular, luego se continua aplicando el gel en el resto de la cara
- ❖ Observación y control semanal sobre la evolución de cada paciente durante 8 semanas
  - Semanalmente se observa el rostro del paciente enfocándose en el contenido de grasa y el enrojecimiento que presenta la inflamación

- La evaluación del producto se realiza mediante el conteo del número de granos en cada paciente y determinando la cantidad que ha disminuido cada semana

## **2.3.9 CONTROL DE CALIDAD DE LOS PRODUCTOS TERMINADOS**

### **2.3.9.1 CONTROL DE CALIDAD DEL GEL.**

El control de calidad de producto terminado 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 el objetivo para el cual fue diseñado de manera segura y eficaz.

#### **- DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA DEL GEL**

Al gel se procede a analizar el aspecto, color, olor, sabor.

**Aspecto:** Es un gel homogéneo untuoso al tacto, libre de grumos. Al ser analizada mediante visualización directa.

**Color:** Café que se determina por el tinte que presenta el gel

**Olor:** Característico a la planta

#### **- DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE GRUMOS EN EL GEL**

Tomar una pequeña cantidad de crema con los dedos y aplicar suavemente en el dorso de la mano y observar si hay la presencia o ausencia de grumos

#### **- DETERMINACIÓN DEL PH**

Se mide en el medidor del pH previamente calibrado con soluciones tampón de pH 4 y 7. Sacar el electrodo del tampón lavar con agua destilada y secar con papel filtro.

En otro vaso se coloca la muestra (gel) e introducir el electrodo limpio homogenizar y determinar el pH.

Anotar los resultados.

#### **- DETERMINACIÓN DE LA EXTENSIBILIDAD DEL GEL.**

Bajo la denominación de extensión o extensibilidad de un gel se entiende su capacidad para ser aplicado y distribuido uniformemente sobre la piel. Se pesa 0.2- 0.02 g de muestra a 25°C se presiona entre dos superficies de vidrio sobre las cual se adiciona una pesa de 100 g durante 1 minuto. El área originada es la variable respuesta (Extb.)

#### **- DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DEL GEL.**

Tomamos una muestra representativa del gel e introducimos en el viscosímetro, sometemos a la acción de la temperatura del baño maría a 25°C y tomar el tiempo desde el punto de partida hasta la señal indicada en el viscosímetro.

### **2.3.9.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

#### **- TEST PARA CONTAJE TOTAL DE MICROORGANISMO AERÓBICOS.**

Asépticamente transfiera 10 g de la muestra en un contenedor adecuado conteniendo peptona, Tween, peptona o TAT (Azoleccitina tripticasa caldo con Tween) y ajuste el volumen a 100 mL si es necesario ponga esta mezcla en un baño a 40 – 45 °C por más de 10 minutos. Mezcle bien en un vortex mixer.

#### **- CONTAJE DE BACTERIAS.**

Transferir 1 mL de la mezcla de 100 mL a dos cajas petri por separado, entonces añadir unos 20 mL de TSA (Tripticasa soya agar) a cada caja. Mover la caja con movimientos de rotación, para obtener una buena mezcla de la muestra con el agar.

Dejar solidificar e invertir las cajas, incubarlas de 30 – 35 °C por 48 horas a 5 días o más tiempo si es requerido.

**- CONTAJE DE HONGOS.**

Proceder como en el punto anterior pero en lugar de usar TSA añadir SAB. (Sabourad dextrosa agar) e incubar de 20 – 25°C por 5 – 7 días.

Al final del periodo de incubación cuente el número de colonias y reporte el promedio de bacterias u hongos encontrados por gramo de muestra.

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

En este capítulo se expondrán en cuadros, los datos experimentales y los resultados obtenidos en la elaboración y control de calidad de la droga cruda, extracto fluido, gel.

#### 3.1. CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA.

Se realizó el control de calidad de las plantas estipulado según la Norma Ecuatoriana Fitoterápicos y la OMS. (38)

##### 3.1.1 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

**CUADRO No. 2 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN DROGA PULVERIZADA DE CALAGUALA COMO MATERIA PRIMA**

MUESTRA	% HUMEDAD	LIMITE
1	0.5972	
2	0.6795	< 6.5%
<b>% PROMEDIO</b>	<b>0.6383</b>	

En el presente cuadro No 2 se puede apreciar el porcentaje de humedad en el cual se tuvo un valor de 0.5972 en la muestra numero 1 y un valor de 0.6795 para la muestra numero 2 teniendo una Humedad promedio de 0.6383, el cual se encuentra dentro de los parámetros establecidos. La baja humedad que posee la planta seca nos ayuda en su conservación ya que a bajas concentraciones de humedad el crecimiento microbiano es casi nulo, además esto permite que los componentes de la planta se concentren siendo favorable para nuestro objetivo.

### 3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

**CUADRO No. 3 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN DROGA PULVERIZADA DE CALAGUALA COMO MATERIA PRIMA.**

MUESTRA	% CENIZAS TOTALES	LIMITE
1	26.3768	Max 37.5 %
2	23.9500	
<b>PROMEDIO</b>	25.6687	

El porcentaje de cenizas totales de las especies vegetales es un indicativo del contenido total de minerales en la muestra, por lo que al observar los resultados del cuadro No 3 la muestra 1 tiene un valor de 26.3768 y la cantidad de cenizas en la muestra 2 es de 23.9500 dando un promedio de 25.6687 encontrándose dentro de los parámetros normales.

**CUADRO No. 4 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA EN DROGA PULVERIZADA DE CALAGUALA COMO MATERIA PRIMA**

MUESTRA	% CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	LIMITES
1	4.9195	Max 7%
2	5.1000	
<b>PROMEDIO</b>	5.0098	

El porcentaje de cenizas solubles en agua presentes en el cuadro No. 4 nos muestra el contenido de materia orgánica en la planta siendo para la muestra 1 un porcentaje de

4.9195 y para la muestra 2 un valor de 5.1000 dando un promedio de 5.0098. Por lo tanto los valores cumplen con los límites establecidos.

**CUADRO No 5. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO EN DROGA PULVERIZADA DE CALAGUALA COMO MATERIA PRIMA**

MUESTRA	% CENIZAS INSOLUBLES EN HCl	LIMITES
1	7.4113	
2	7.8994	Max 8%
<b>PROMEDIO</b>	7.6554	

Los valores de la determinación de cenizas solubles en ácido clorhídrico presentados en el cuadro No. 5 para la muestra 1 es de 7.4113 mientras que para la muestra 2 es de 7.8994 teniendo un promedio de 7.6554 lo que indica la presencia de arena o tierra en la muestra estando en el límite permisible.

### 3.1.3 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

**CUADRO No. 6 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE SUSTANCIAS SOLUBLES EN DROGA PULVERIZADA DE CALAGUALA COMO MATERIA PRIMA**

MUESTRA	% SUSTANCIAS SOLUBLES
1	60.3251
2	60.9120
<b>PROMEDIO</b>	60.6185

Los resultados expresados en el cuadro No.6, nos indica que el contenido de sustancias solubles en agua presentes para la muestra 1 es de 60.3251 y para la muestra 2 es 60.9120 con un promedio de 60.6185 lo que indica que la planta posee gran cantidad de sustancias solubles posiblemente de naturaleza glucosídica ya que como veremos más adelante el extracto muestra presencia de glucósidos al realizar el tamizaje fitoquímico.

### 3.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DEL EXTRACTO FLUIDO

#### 3.2.1 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA

CUADRO No 7. RESULTADOS DE LA DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO FLUIDO DE RIZOMA DE CALAGUALA

PARÁMETRO	DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA
COLOR	Café
OLOR	Ligeramente a alcohol
TURBIDEZ	No
ASPECTO	Líquido

Se debe indicar que los parámetros organolépticos de calidad del extracto fluido no tienen estándares de referencia con los cuales se los puede comparar, ya que estos extractos tienen sus propios valores y características dependiendo la parte de la planta y el tipo de extracción.

#### 3.2.2 PARÁMETROS FÍSICOS

CUADRO No 8. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD DEL EXTRACTO FLUIDO DE RIZOMA DE CALAGUALA

DETERMINACIÓN	RESULTADO
pH	6.32
Índice de refracción	1.373
Densidad relativa	0.9963
Contenido etanólico	25
sólidos totales (min 6%)	11.69

En el cuadro No 8 se observa los valores que arrojaron el estudio del extracto fluido de Calaguala de estos valores están acordes a las especificaciones de la metodología OMS.

Los sólidos totales deben tener un % mínimo de 6 %, en nuestro extracto se obtuvo un valor de 11.69 lo que indica que está dentro del parámetro establecido.

### 3.2.3 REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN, TAMIZAJE FITOQUÍMICO.

El tamizaje fitoquímico constituye uno de los análisis que nos ayuda a determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en la planta.

**CUADRO No. 9 RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO EN EXTRACTO FLUIDO DE RIZOMA DE CALAGUALA**

ENSAYO	METABOLITO	RESULTADO
<b>DRAGENDORFF</b>	Alcaloides	Positivo (+)
<b>WAGNER</b>	Alcaloides	Positivo (+)
<b>MAYER</b>	Alcaloides	Positivo (+)
<b>BALJET</b>	Lactonas y Cumarinas	Positivo (++)
<b>BORNTRAGER</b>	Flavonoides, Antraquinonas y Naftoquinonas	Positivo (+++)
<b>LIBERMAN BUCHARD</b>	Triterpenos, esteroides	Positivo (+)
<b>RESINAS</b>	Resinas	Negativo
<b>ESPUMA</b>	Saponinas	Positivo (++)
<b>COLORURO FÉRRICO</b>	Fenoles, taninos	Positivo (Taninos)
<b>SHINODA</b>	Flavonoides	Positivo
<b>GELATINA</b>	Taninos	Positivo
<b>FEHELING</b>	Aldehído y grupos reductores	Positivo

De acuerdo a los resultados expresados en el cuadro No 9 se determinó la presencia de los siguientes metabolitos secundarios como Alcaloides, Lactonas y cumarinas,

Flavonoides, Triterpenos y esteroides, Saponinas, Taninos, Grupos reductores y aldehídos. Los cuales podemos comparar con los compuestos presentes en rizoma de *Polypodium triseriale*, los cuales coinciden en presencia de Flavonoides, Cumarinas y Saponinas. Por lo que podemos notar que existe cierta diferencia entre las diferentes especies de Calagualas.(20)

### 3.3 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES

El control calidad de los excipientes que son utilizados para formular formas farmacéuticas es uno de todos los eslabones del sistema de Aseguramiento de Calidad en la Industria Farmacéutica. El laboratorio de Control de Calidad, mediante técnicas analíticas validadas, debe certificar la calidad de todos los fármacos y excipientes luego que éstos llegan a la bodega de materias primas. De esta manera, el laboratorio de Control de Calidad podrá liberar una partida de una sustancia determinada, la cual entonces y sólo entonces puede ser utilizada en los diferentes procesos de producción (4).

#### 3.3.1 CARBOPOL 940 NF

**CUADRO No. 10 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES PARA EL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA**

TIPO DE ANÁLISIS	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
Descripción	Polvo blanco fino, libre de partículas extrañas	Cumple
Identificación	Prueba A y B	Cumple
Viscosidad	Viscosidad 30 500 – 39 400 cp.	32 000
Límites del benceno	Máximo 0.05 %	Certificado de análisis
Pérdida por secado	Máximo 2.0 %	1.2 %
Metales pesados	Máximo 0.002 %	0.0015 %
Ensayo: Grupo carboxílico	56.68% en base seca	60.8 %

Los resultados expresados en el cuadro N° 10, nos indican que el carbopol 940 cumple con el control de calidad realizado con los diferentes tipos de análisis y especificaciones de acuerdo a la USP XXVIII.

### 3.3.2 TRIETANOLAMINA (TEA) NF

**CUADRO No. 11 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES PARA EL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA**

TIPO DE ANÁLISIS	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
Descripción	Líquido claro, incoloro, viscoso, libre de partículas extrañas	Cumple
Identificación	Prueba A y B	Cumple
Residuo de Ignición	No más 0.05%	0.01%
Ensayo	No menos de 99.0 – 107.4 %	105.2 %
Gravedad específica a 20°C	1.120 – 1.128	1.125
Índice de refracción	1.481 – 1.486	1.483
Agua	No menos de 99.0 – 107.4 %	105.2 %

Los resultados expresados en el cuadro N° 11, nos indica que la trietanolamina cumple con el control de calidad según la metodología la USP XXVIII.

### 3.3.3 ALCOHOL ETÍLICO (ALCOHOL POTABLE)

**CUADRO No. 12 CONTROL DE CALIDAD DEL ALCOHOL POTABLE UTILIZADO PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO FLUIDO PARA EL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA**

TIPO DE ANÁLISIS	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
------------------	----------------	-----------

Descripción	Líquido incoloro, claro transparente, móvil y volátil, hierve alrededor de 78°C, olor característico sabor quemante, Rápidamente inflamable. Arde con una llama azul.	Cumple
Solubilidad	Miscible con agua, éter y cloroformo	Cumple
Identificación	Prueba A y B	Cumple
Acidez o Alcalinidad	Pasa la prueba	Cumple
Densidad específica a 20°C	de 0.819 a 0.8139	0.8092
Grado alcohólico	Alcoholímetro de Gay Lussac 94.9 y 96.0 %	96
Límites de residuo no volátil	El peso del residuo no excede en 1 mg	0.08 mg
Sustancias insolubles en agua	Pasa la prueba	Cumple
Constituyentes en aceite	Pasa la prueba	Cumple
Metanol	Pasa la prueba	Cumple

Los resultados expresados en el cuadro N°12 nos indica que el alcohol etílico (alcohol potable) cumple con el control de calidad según la USP XXVIII.

Todos los parámetros de control de calidad con respecto a los excipientes corresponden una batería de análisis, preestablecidos en su correspondiente boletín de análisis.

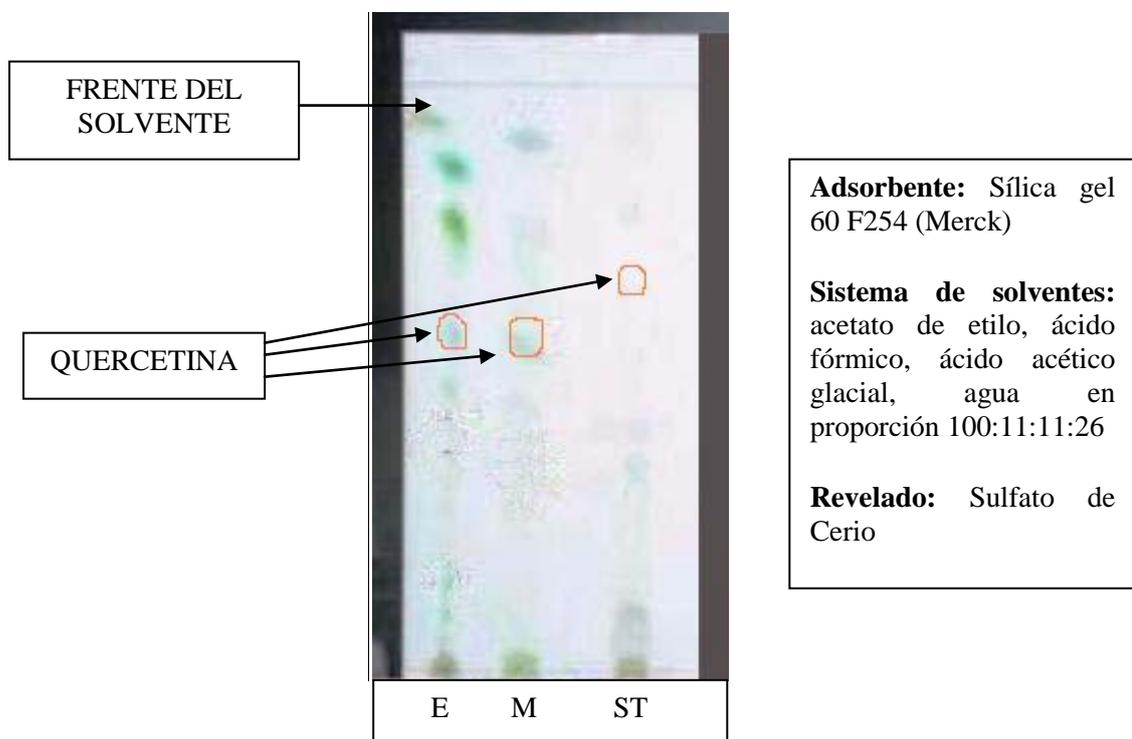
### **3.4 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES POR CROMATOGRAFÍA**

Se utilizó dos tipos de solventes para la fase móvil, y la cromatografía se realizó en placa de sílica gel y además de óxido de aluminio por separado

Como fase móvil se empleó una mezcla de acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial, agua en proporción 100:11:11:26. Como revelador se utilizó Sulfato de Cerio

Las cromatoplasmas se dejaron desarrollar entre 7 y 8 cm, punteando cada muestra o estándar a 1.5 cm a partir de la base.

**FOTOGRAFÍA 3: CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO Y PRODUCTO TERMINADO DE GEL DE CALAGUALA**



E= extracto

M= muestra del gel

ST= Estándar

De acuerdo a la cromatografía realizada podemos evidenciar la presencia de flavonoides en nuestra muestra con un Rf de 0.83 y en el extracto un Rf de 0.84 comparado con el del estándar con un Rf de 0.85

**CUADRO No 13. DETERMINACIÓN DE Rf DEL EXTRACTO FLUIDO Y EL GEL DE CALAGUALA**

MUESTRA	Rf	COMPUESTO ANALIZADO	COLOR
<b>Extracto</b>	0.84(5.96)	Quercetina	Naranja

<b>Gel</b>	0.83(5.89)	Quercetina	Naranja
------------	------------	------------	---------

Los resultados expresados en el Cuadro No. 13, nos indican los cálculos respectivos de los Rf en cromatografía en capa fina del compuesto respectivo que se encuentra en la muestras de extracto fluido y gel, indicando la presencia de Flavonoides.

### 3.5 CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES EXPRESADOS COMO QUERCETINA EN EL GEL ANTIACNÉ DE CALAGUALA.

**CUADRO No. 14 CONTENIDO DE FLAVONOIDES EXPRESADOS COMO QUERCETINA Y DATOS PARA SU CÁLCULO**

MUESTRA	PESO DE LA MUESTRA	ABSORBANCIA	CONTENIDO DE FLAVONOIDES %
<b>Gel</b>	1g	0.1169	1.9192
<b>Estándar</b>	0.4g	0.5091	

De acuerdo a los resultados expresados en el cuadro N°14 nos indica que existe un contenido considerable de flavonoides por lo que garantiza una acción favorable para nuestro objetivo.

### 3.6 CONTROL DE CALIDAD DEL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA

El control de calidad de producto terminado tiene como propósito determinar si una forma farmacéutica posee los atributos de calidad previamente establecidos. Estas características buscan poder conseguir en último término que el medicamento cumpla el objetivo para el cual fue diseñado de manera segura.

#### 3.6.1 PROPIEDADES FÍSICAS

**CUADRO No. 15 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS DEL GEL DE CALAGUALA**

PARÁMETRO	RESULTADO
<b>Aspecto</b>	Gel homogéneo
<b>Color</b>	Café

<b>Olor</b>	Herbal
<b>Presencia de Grumos</b>	Negativo
<b>Peso</b>	100g

Los resultados expresados en la cuadro No.15, nos indican los caracteres organolépticos los cuales presentan un olor agradable debido a la utilización de esencia herbal. No existe la presencia de grumos tiene una buena untuosidad al tacto.

### 3.6.2 DETERMINACIÓN DEL pH

CUADRO No.16. DETERMINACIÓN DEL pH DEL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA

<b>pH</b>	<b>LIMITES</b>
<b>6.37</b>	4-7

Los resultados expresados en el cuadro No.16, indican que el pH del gel se encuentra dentro de los límites permitidos según la USP 28. Siendo un resultado beneficioso para nuestro objetivo debido a que es adecuado para el uso en la piel.

### 3.6.3 DETERMINACIÓN DE LA EXTENSIBILIDAD

CUADRO No. 17 DETERMINACIÓN DE EXTENSIBILIDAD DEL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA

<b>EXTENSIBILIDAD</b>	<b>LIMITES</b>
<b>4.34 mm</b>	Máximo 4.5 mm

Los resultados expresados en el cuadro No.17, nos indica que la extensibilidad es del gel fue de 4.34mm por lo que cumple con los límites permisibles.

### 3.6.4 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD

CUADRO No. 18 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DEL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA

<b>VISCOSIDAD</b>	<b>LIMITES</b>
-------------------	----------------

**54.68cp** No hay especificación

De acuerdo al cuadro No. 18 podemos determinar que la viscosidad del gel a base de calaguala es de 54.68cp.

### 3.6.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

**CUADRO No.19 DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA**

ENSAYO	VALOR ENCONTRADO	VALOR DE REFERENCIA	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
<b>Aerobios mesófilos</b>	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	ACEPTABLE
<b>Mohos y Levaduras</b>	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	ACEPTABLE
<b>Coliformes totales</b>	24 NMP/g	0-100 NMP/g	ACEPTABLE
<b>Coliformes fecales</b>	Ausencia	< 10 NMP/g	ACEPTABLE
<b>Salmonella sp</b>	Ausencia	Ausencia	ACEPTABLE

NMP: Número más probable

UFC: Unidades formadoras de Colonias

De acuerdo al cuadro No. 19 podemos ver que existe un análisis microbiológico aceptable por lo que nuestro producto se encuentra en óptimas condiciones y se puede permitir su uso. Además refleja una buena asepsia durante su elaboración

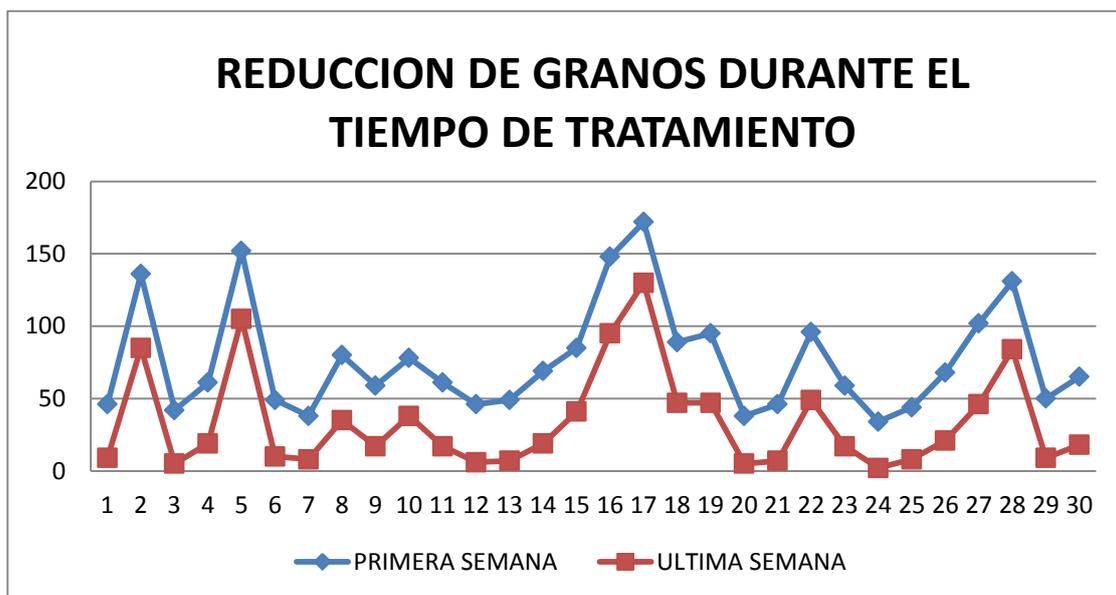
### 3.6.6 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD TERAPÉUTICA DEL GEL DE CALAGUALA (*Campyloneurum amphostenon*).

Para realizar el análisis terapéutico estadístico se utilizó como población a personas que padecen de acné en la ciudad de Riobamba provincia de Chimborazo. Se tomó una muestra de 40 pacientes voluntarios cuya edad oscila entre 14-16 años. Luego se realizó

el conteo de granos clasificando a los pacientes de acuerdo al tipo de acné y la concentración del gel a aplicar, así mismo se separará al grupo de pacientes que se someten al tratamiento placebo. El tratamiento tuvo una duración de 8 semanas consecutivas. Los pacientes que presentaron un bajo rendimiento de eficacia con el gel de Calaguala se realizó un tratamiento con el gel comercial “OXY” para determinar las posibles causas.

**TABLA No7. DATOS OBTENIDOS DE LA EVALUACIÓN TERAPÉUTICA DEL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA A DIFERENTES CONCENTRACIONES**

PACIENTE	SEMANAS DE TRATAMIENTO								DISMINUCION DE GRANOS	%	PROMEDIO	CONCENTRACION DEL GEL
	1	2	3	4	5	6	7	8				
1	38	35	27	20	14	10	8	5	33	86,84%	31,00%	CONCENTRACIÓN 20%
2	46	43	34	26	21	14	10	6	40	86,96%		
3	49	43	35	27	21	16	11	7	42	85,71%		
4	61	58	46	37	30	25	20	17	44	72,13%		
5	69	65	59	45	39	28	22	19	50	72,46%		
6	85	84	76	65	58	51	47	41	44	51,76%		
7	89	85	80	71	65	60	51	47	42	47,19%		
8	95	92	84	75	63	58	53	47	48	50,53%		
9	148	140	129	120	112	103	98	95	53	35,81%		
10	172	170	165	158	146	140	136	130	42	24,42%		
<b>PROMEDIO 61,38%</b>												
11	38	35	29	21	17	14	10	8	30	78,95%	33,00%	CONCENTRACION 30%
12	42	38	29	21	17	11	7	5	37	88,10%		
13	46	42	35	27	20	16	11	9	37	80,43%		
14	49	47	38	30	24	19	15	10	39	79,59%		
15	59	52	45	38	30	23	20	17	42	71,19%		
16	61	59	45	36	30	24	20	19	42	68,85%		
17	78	75	67	61	52	46	41	38	40	51,28%		
18	80	75	68	60	54	47	41	35	45	56,25%		
19	136	131	124	119	108	97	90	85	51	37,50%		
20	152	148	139	129	120	114	108	105	47	30,92%		
<b>PROMEDIO 64,31%</b>												
21	34	31	26	19	12	7	5	2	32	94,12%	36,00%	CONCENTRACION 40%
22	44	40	37	31	24	19	12	8	36	81,82%		
23	46	41	36	29	20	16	11	7	39	84,78%		
24	50	47	41	30	24	17	12	9	41	82,00%		
25	59	55	50	44	36	28	21	17	42	71,19%		
26	65	64	58	42	36	29	23	18	47	72,31%		
27	68	65	59	47	40	34	27	21	47	69,12%		
28	96	91	84	74	68	60	53	49	47	48,96%		
29	102	98	84	76	68	61	53	46	56	54,90%		
30	131	128	120	111	104	95	90	84	47	35,88%		
<b>PROMEDIO 69,51%</b>												

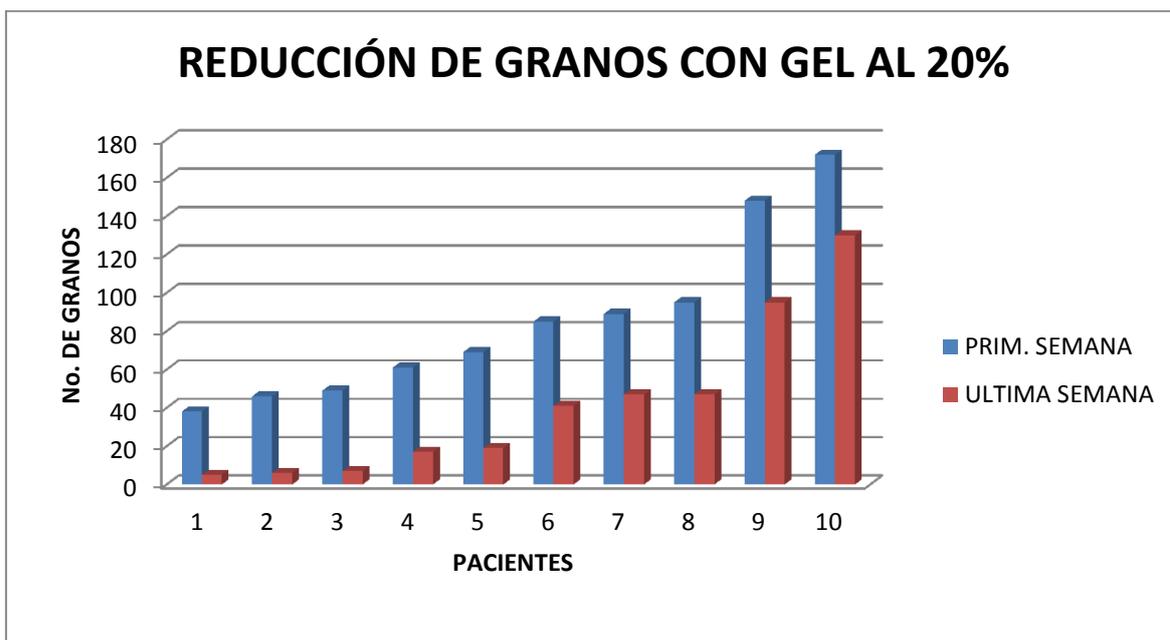


**GRAFICO No1. REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE GRANOS EN LOS PACIENTES TRATADOS CON GEL DE CALAGUALA.**

Como podemos observar en los datos obtenidos en la Tabla No. 7 y en el Gráfico No. 1 el número de granos disminuye a medida que el tratamiento avanza, notándose la actividad desde la primera semana. La reducción de granos es considerable de acuerdo a como inicia el paciente y como se encuentra el número de granos en la última semana.

**TABLA No 8. DATOS OBTENIDOS EN EL TIEMPO DE TRATAMIENTO CON GEL DE CALAGUALA A UNA CONCENTRACIÓN DEL 20%**

SEMANAS DE TRATAMIENTO			DISMINUCIÓN DE GRANOS	% DE DISMINUCIÓN
PACIENTE	PRIM. SEMANA	ULTIMA SEMANA		
1	38	5	33	86,84%
2	46	6	40	86,96%
3	49	7	42	85,71%
4	61	17	44	72,13%
5	69	19	50	72,46%
6	85	41	44	51,76%
7	89	47	42	47,19%
8	95	47	48	50,53%
9	148	95	53	35,81%
10	172	130	42	24,42%

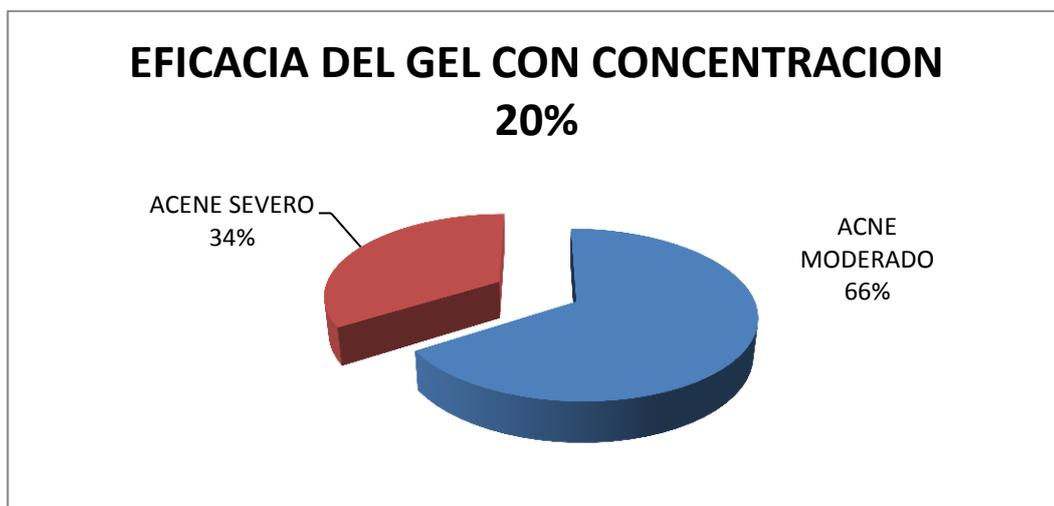


**GRAFICO No2. REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE GRANOS EN LOS PACIENTES TRATADOS CON GEL DE CALAGUALA. AL 20% DE CONCENTRACIÓN**

De acuerdo a los datos de la Tabla No.8 y el Gráfico No. 2 podemos notar que el con concentración de 20% tiene una actividad positiva en los pacientes ya que existe una reducción del número de granos desde la primera semana a la última semana de tratamiento.

**TABLA No. 9 EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL GEL DE CALAGUALA AL 20% POR TIPO DE ACNÉ**

PACIENTES	% REDUCCIÓN	TIPO DE ACNÉ	PROMEDIO EFICACIA
1	86,84%	ACNÉ MODERADO	66,00%
2	86,96%		
3	85,71%		
4	72,13%		
5	72,46%		
PROMEDIO 80,82%			
6	51,76%	ACNÉ SEVERO	34,00%
7	47,19%		
8	50,53%		
9	35,81%		
10	24,42%		
PROMEDIO 41,94%			

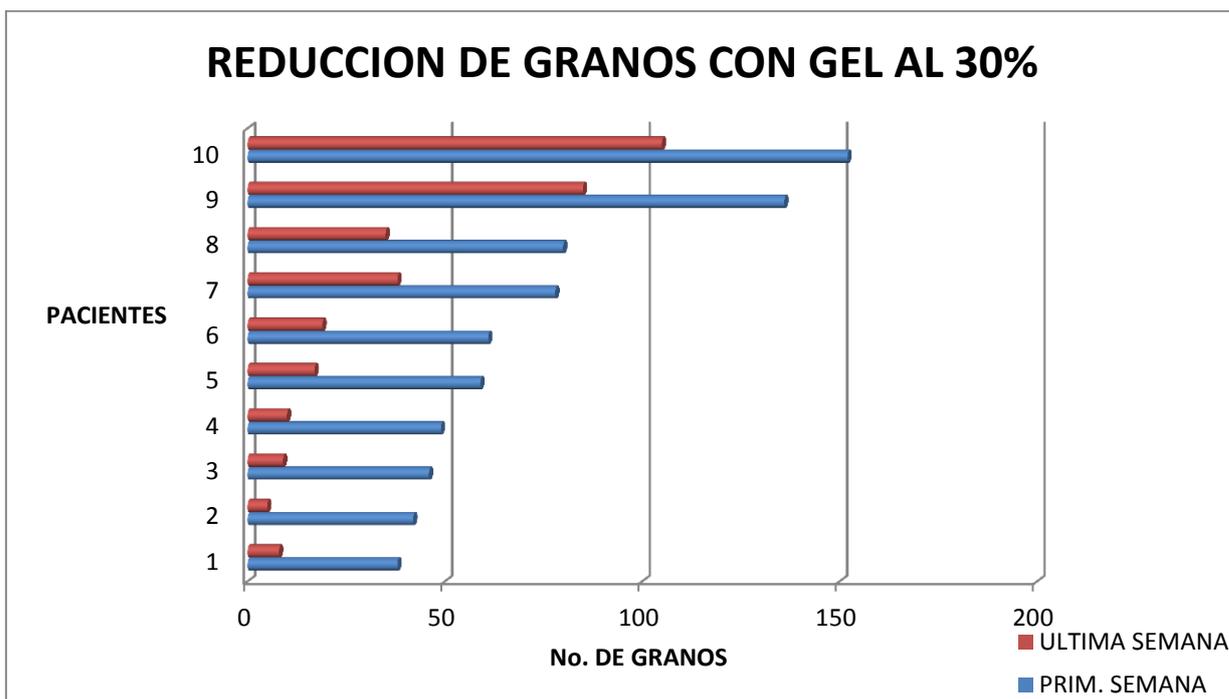


**GRAFICO No. 3 EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL GEL DE CALAGUALA A UNA CONCENTRACIÓN DEL 20% POR TIPO DE ACNÉ**

Al observar la Tabla No. 9 y el Gráfico No. 3 vemos como existe una eficacia de la actividad terapéutica del gel con respecto al tipo de acné del paciente por lo que al tratar un acné moderado la eficacia es de 66% siendo relativamente mayor a la eficacia en acné severo con un 34%. Esta diferencia puede deberse al tipo de acné que posee el paciente y la severidad del mismo.

**TABLA No. 10 DATOS OBTENIDOS EN EL TIEMPO DE TRATAMIENTO CON GEL DE CALAGUALA A UNA CONCENTRACIÓN DEL 30%**

PACIENTE	SEMANAS DE TRATAMIENTO		DISMINUCIÓN DE GRANOS	% REDUCCIÓN
	PRIM. SEMANA	ULTIMA SEMANA		
1	38	8	30	78,95%
2	42	5	37	88,10%
3	46	9	37	80,43%
4	49	10	39	79,59%
5	59	17	42	71,19%
6	61	19	42	68,85%
7	78	38	40	51,28%
8	80	35	45	56,25%
9	136	85	51	37,50%
10	152	105	47	30,92%



**GRAFICO No. 4 REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE GRANOS EN LOS PACIENTES TRATADOS CON GEL DE CALAGUALA. AL 30% DE CONCENTRACIÓN**

Al observar la Tabla No. 10 y el Gráfico No. 4 se determina que existe una reducción significativa del número de granos de los pacientes tratados con el gel de concentración 30%. Con una reducción de granos desde la primera semana de tratamiento hasta la última semana.

**TABLA No. 11 EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL GEL DE CALAGUALA AL 30% POR TIPO DE ACNÉ**

PACIENTES	%	TIPO DE ACNÉ	PROMEDIO EFICACIA
1	78,95%	ACNÉ MODERADO	62,00%
2	88,10%		
3	80,43%		
4	79,59%		
5	71,19%		
PROMEDIO 79,65%			
6	68,85%	ACNÉ SEVERO	38,00%
7	51,28%		
8	56,25%		
9	37,50%		
10	30,92%		
PROMEDIO 48,96%			

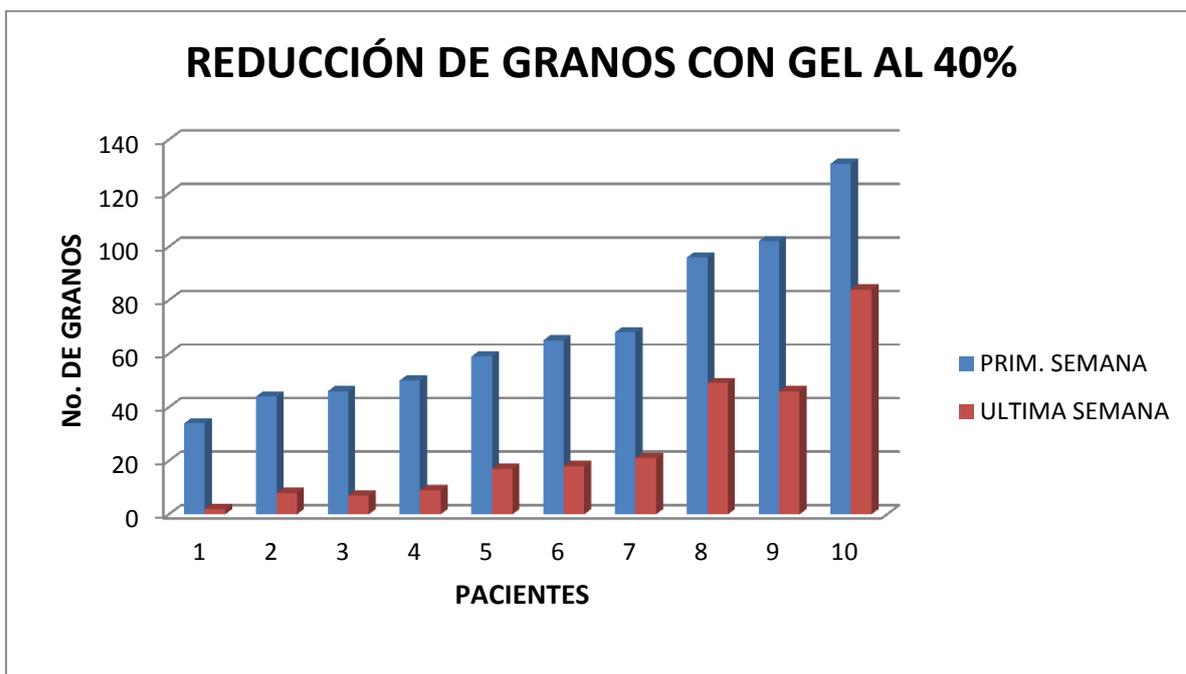


**GRAFICO No. 5 COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DEL GEL DE CALAGUALA al 30% RESPECTO AL TIPO DE ACNÉ**

De acuerdo a los datos obtenidos en la Tabla No. 11 y el Gráfico No. 5 se puede observar que el gel al 30% tiene una eficacia del 38% en el acné severo y un 62% en el acné moderado por lo que se ve mejores resultados en pacientes con acné moderado.

**TABLA No. 12 DATOS OBTENIDOS A LO LARGO DEL TRATAMIENTO CON GEL DE CALAGUALA CON CONCENTRACIÓN AL 40%**

SEMANAS DE TRATAMIENTO			DISMINUCIÓN DE GRANOS	% REDUCCIÓN
PACIENTE	PRIM. SEMANA	ULTIMA SEMANA		
1	34	2	32	94,12%
2	44	8	36	81,82%
3	46	7	39	84,78%
4	50	9	41	82,00%
5	59	17	42	71,19%
6	65	18	47	72,31%
7	68	21	47	69,12%
8	96	49	47	48,96%
9	102	46	56	54,90%
10	131	84	47	35,88%

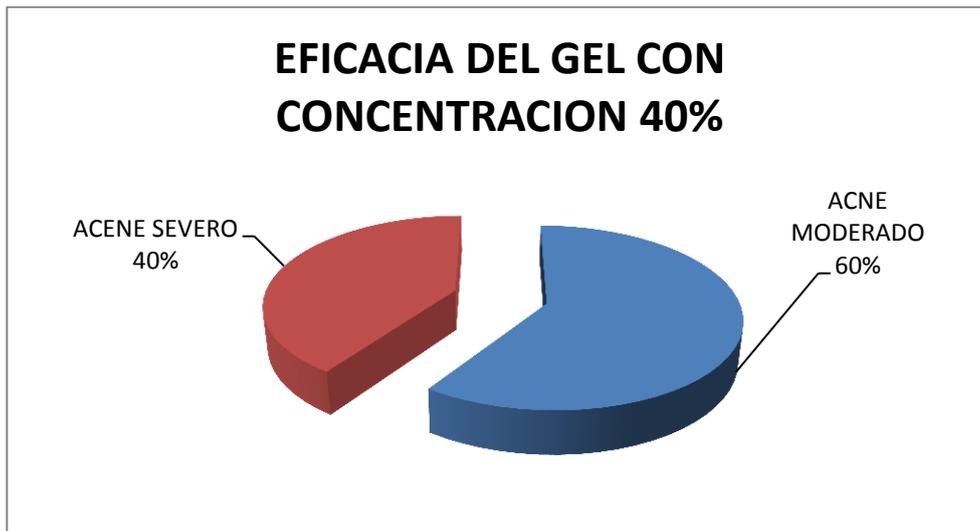


**GRAFICO No. 6 REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE GRANOS EN LOS PACIENTES TRATADOS CON GEL DE CALAGUALA. AL 40% DE CONCENTRACIÓN**

Al observar la Tabla No. 12 y el Gráfico No. 6 notamos que existe reducción del número de granos en los pacientes desde el inicio del tratamiento hasta la última semana.

**TABLA No. 13 EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL GEL DE CALAGUALA AL 40% POR TIPO DE ACNÉ**

PACIENTES	%	TIPO DE ACNÉ	PROMEDIO EFICACIA
1	94,12%	ACNÉ MODERADO	82,78%
2	81,82%		
3	84,78%		
4	82,00%		
5	71,19%		
PROMEDIO 82,78%		ACNÉ SEVERO	56,23%
6	72,31%		
7	69,12%		
8	48,96%		
9	54,90%		
10	35,88%		
PROMEDIO 56,23%			



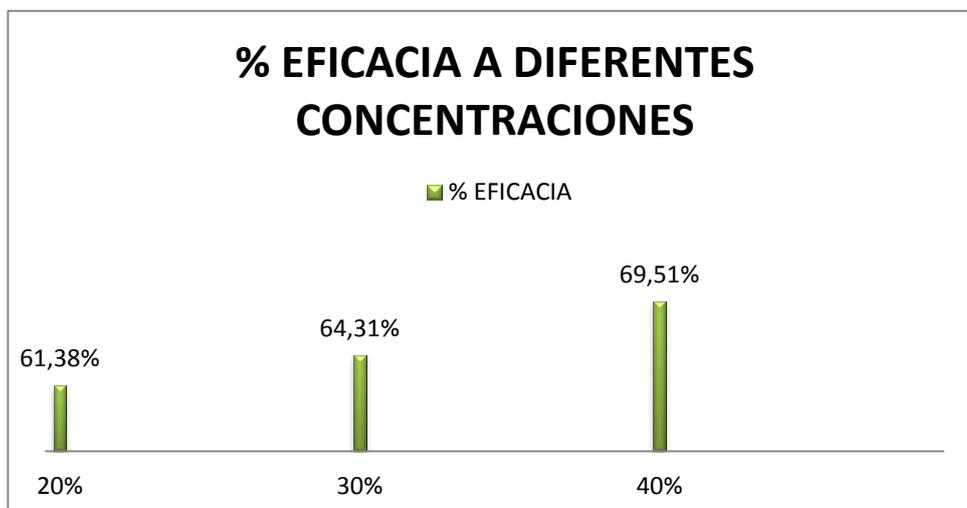
**GRAFICO No. 7 COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DEL GEL DE CALAGUALA al 40% RESPECTO AL TIPO DE ACNÉ**

Analizando la Tabla No. 13 y el Gráfico No. 7 encontramos que existe una eficacia del 60% frente al acné moderado y para los pacientes con acné severo se tiene una eficacia del 40% obteniéndose mejores resultados en los pacientes con acné moderado.

**TABLA No. 14 COMPARACIÓN DE EFICACIA DEL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES**

PACIENTE	% DE REDUCCIÓN	PROMEDIO	CONCENTRACIÓN DEL GEL
1	86,84%	61,38%	20%
2	86,96%		
3	85,71%		
4	72,13%		
5	72,46%		
6	51,76%		
7	47,19%		
8	50,53%		
9	35,81%		
10	24,42%		
11	78,95%	64,31%	30%
12	88,10%		
13	80,43%		

14	79,59%		
15	71,19%		
16	68,85%		
17	51,28%		
18	56,25%		
19	37,50%		
20	30,92%		
21	94,12%	69,51%	40%
22	81,82%		
23	84,78%		
24	82,00%		
25	71,19%		
26	72,31%		
27	69,12%		
28	48,96%		
29	54,90%		
30	35,88%		

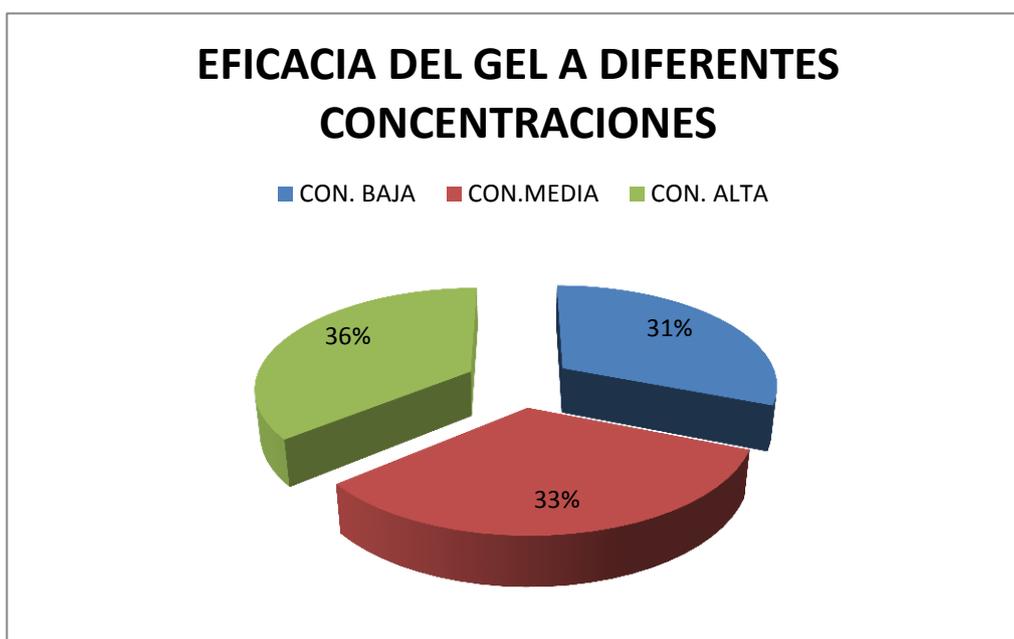


**GRÁFICO No. 8 COMPARACIÓN DE EFICACIA DEL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES**

Como podemos observar en la Tabla No. 14 y en el Gráfico No. 8 la eficacia del gel de Calaguala con una concentración de 20% tiene una eficacia del 61.38%, mientras que la concentración al 30% tiene una eficacia del 64.31% y la concentración del 40% una eficacia del 64.51% por lo que la concentración no difiere significativamente en su actividad.

**TABLA No. 15 COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DEL GEL DE CALAGUALA DE ACUERDO A SU ACTIVIDAD TERAPÉUTICA**

PROMEDIO	CONCENTRACIÓN DEL GEL
31,00%	BAJA
33,00%	MEDIA
36,00%	ALTA

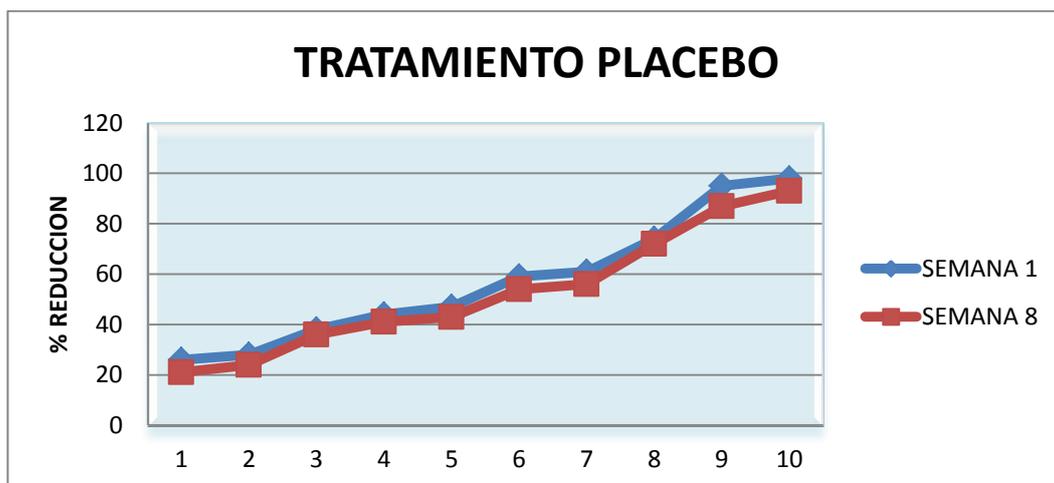


**GRAFICO No. 9 COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DEL GEL DE CALAGUALA DE ACUERDO A SU ACTIVIDAD TERAPÉUTICA**

De acuerdo a los datos expuestos en la Tabla No. 15 y el Gráfico No. 9 observamos que existe un porcentaje de eficacia similar a las diferentes concentraciones teniendo un porcentaje de 31% para la concentración más baja seguida por la concentración media con un 33% y por último la concentración mayor con un 36%, teniendo apenas una diferencia de 1-3% de eficacia entre concentraciones.

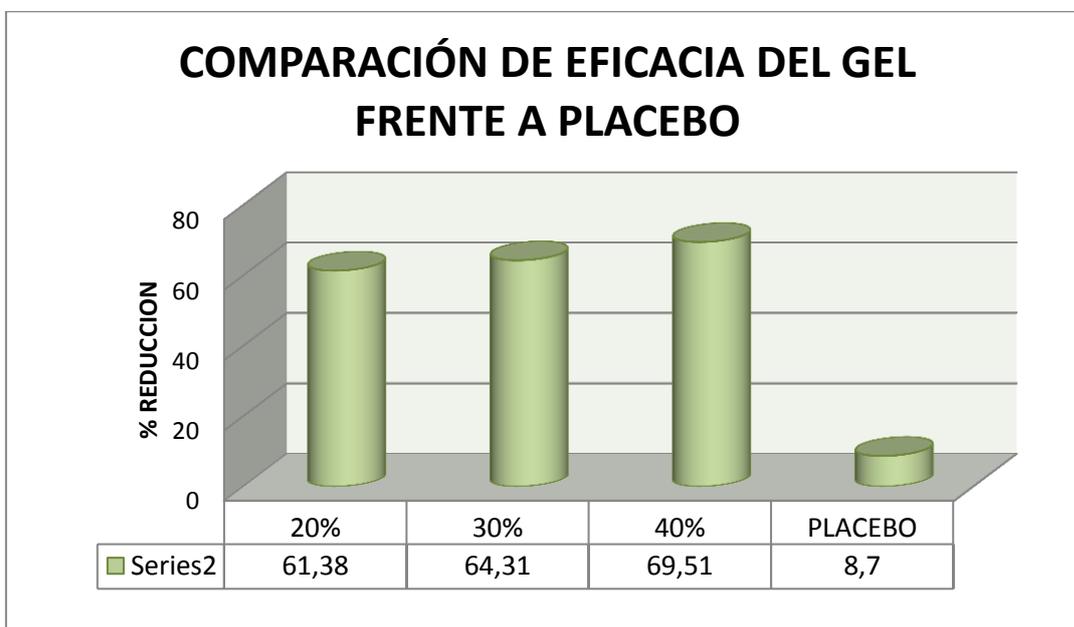
**TABLA No. 16 DATOS OBTENIDOS DURANTE EL TRATAMIENTO CON PLACEBO A LOS PACIENTES CON ACNÉ**

PACIENTE	SEMANAS DE TRATAMIENTO								DISMINUCIÓN DE GRANOS	% DE REDUCCIÓN	PROMEDIO
	1	2	3	4	5	6	7	8			
1	26	24	24	23	24	24	24	21	5	19,23%	8,70%
2	28	26	25	26	25	24	25	24	4	14,29%	
3	38	37	37	38	38	39	37	36	2	5,26%	
4	44	40	39	38	40	42	42	41	3	6,82%	
5	47	46	46	45	44	43	43	43	4	8,51%	
6	59	59	57	57	58	56	56	54	5	8,47%	
7	61	59	57	57	58	58	56	56	5	8,20%	
8	74	73	73	74	75	74	72	72	2	2,70%	
9	95	95	94	93	93	90	90	87	8	8,42%	
10	98	97	98	97	95	94	95	93	5	5,10%	



**GRAFICO No. 10 REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE GRANOS DESDE LA PRIMERA SEMANA HASTA LA ÚLTIMA SEMANA DE TRATAMIENTO POR PLACEBO**

Al observar la Tabla No. 16 y el Gráfico No. 10 notamos que no existe una reducción del número de granos significativa desde la primera semana de tratamiento hasta la última semana por lo que no es un tratamiento eficaz.



**GRAFICO No. 11 COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DEL GEL A BASE DE CALAGUALA FRENTE A EFECTO PLACEBO**

Según lo que observamos en el gráfico No. 11 podemos encontrar una eficacia del 8.70% del tratamiento placebo que es insignificante frente a la eficacia del gel de Calaguala a

diferentes concentraciones que tienen porcentajes mayores de eficacia en el tratamiento del acné. Lo que significa que el extracto posee principios activos que tienen una actividad farmacológica comprobada como tratamiento para el acné.

**TABLA No. 17 DETERMINACIÓN DE EFICACIA DEL GEL DE CALAGUALA MEDIANTE ANÁLISIS DE VARIANZAS Y TEST DE TUKEY**

<b>ANÁLISIS DE LA VARIANZA</b>					
Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	
Columna2	30	0,03	0,00	30,88	
<b>CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO III)</b>					
F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	338,88	2	169,44	0,42	0,6614
Columna1	338,88	2	169,44	0,42	0,6614
Error	10898,21	27	403,64		
Total	11237,09	29			
<b>TEST : TUKEY ALFA: 0,05 DMS: 22,29354</b>					
<i>Error: 403,6373 gl: 27</i>					
Columna1	Medias		n		
1,00	61,3810		A		
2,00	64,3110		A		
3,00	69,5110		A		

De acuerdo a los datos obtenidos en el análisis de varianza y test de Tukey expuestos en la Tabla No. 17 podemos deducir que la actividad del gel no varía según la concentración ya que los grupos son similares y sus medias oscilan entre los 61-69% de eficacia.

**TABLA No. 18 COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DEL GEL DE CALAGUALA FRENTE A PLACEBO**

<b>ANÁLISIS DE VARIANZA</b>					
NÚMEROS DE CASOS 40					
	SC	GL	MEDIO	F	p
ENTRE CONCENTRACIONES	24168.0810	3	8056.0270	260081.5819	0.0004E-74
POR CONCENTRACIÓN	1.1151	36	0.0310		
TOTAL	24169.1961	39			

TEST DE TUKEY 0.05			
Método: LSD al 95.00%			
GRUPO	N	MEDIA	GRUPOS HOMOGÉNEOS
PLACEBO	10	8.7	X
CONCENTRACIÓN 20	10	61.38	A
CONCENTRACIÓN 30	10	64.31	A
CONCENTRACIÓN 40	10	69.51	A
Diferencia estadísticamente significativa			

Por lo expuesto en la Tabla No. 18 podemos ver que al realizar el análisis estadístico sobre la eficacia del gel a sus diferentes concentraciones frente a placebo estos son significativamente diferentes

**TABLA No. 19 DATOS OBTENIDOS DURANTE LAS PRIMERAS CUATRO SEMANAS DE TRATAMIENTO DEL ACNÉ CON GEL DE CALAGUALA, EN PACIENTES EN LOS QUE SE OBTUVO UNA EFICACIA MENOR**

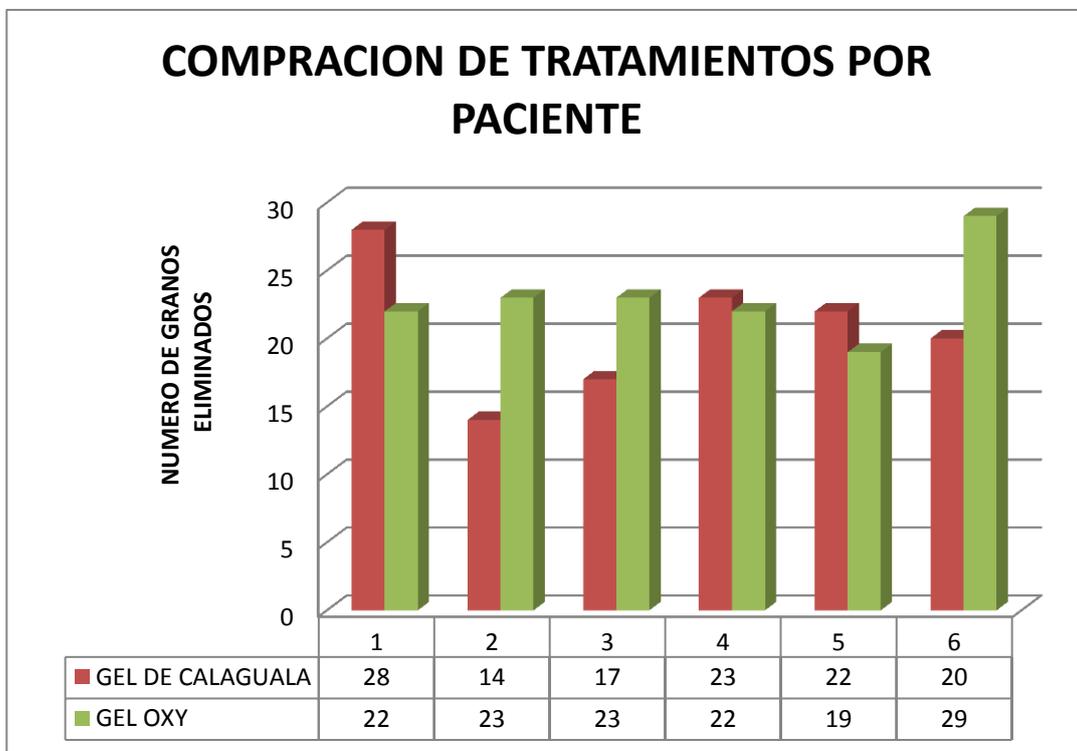
PACIENTE	NUMERO DE GRANOS				GRANOS ELIMINADOS	% DE REDUCCIÓN
	SEMANAS DE TRATAMIENTO					
1	148	140	129	120	28	18,92%
2	172	170	165	158	14	8,14%
3	136	131	124	119	17	12,50%
4	152	148	139	129	23	15,13%
5	96	91	84	74	22	22,92%
6	131	128	120	111	20	15,27%
					PROMEDIO	15,48%

**TABLA No. 20 DATOS OBTENIDOS DURANTE CUATRO SEMANAS DE TRATAMIENTO DE ACNÉ CON UN PRODUCTO COMERCIAL “OXY”, EN PACIENTES EN LOS QUE SE OBTUVO UNA EFICACIA MENOR CON GEL DE CALAGUALA**

PACIENTE	NUMERO DE GRANOS				GRANOS ELIMINADOS	% DE REDUCCIÓN
	SEMANAS DE TRATAMIENTO					
1	120	114	107	98	22	18,33%
2	158	150	143	135	23	14,56%
3	119	112	105	96	23	19,33%

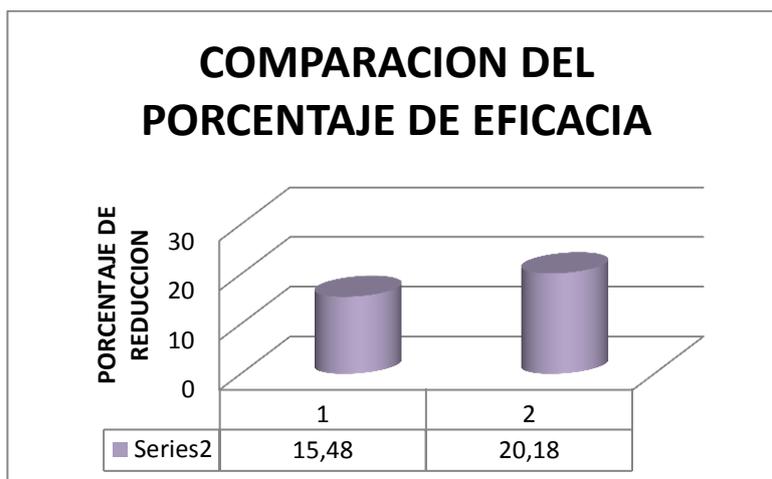
4	129	121	113	107	22	17,05%
5	74	68	60	55	19	25,68%
6	111	94	86	82	29	26,13%
					PROMEDIO	20,18%

Teniendo en cuenta los datos de la tabla No. 19 y No. 20 podemos determinar que en los dos tratamientos se produce una reducción del número de granos en los pacientes, en los que el tratamiento con gel de calaguala tiene un porcentaje de reducción de granos del 15.48% mientras que el porcentaje de reducción de granos en los pacientes tratados con el gel comercial “OXY” es de 20.18%, teniendo una diferencia del 4.7%.



**GRÁFICO No. 12 COMPARACIÓN DEL TRATAMIENTO CON GEL DE CALAGUALA EN LAS PRIMERAS CUATRO SEMANAS EN PACIENTES QUE TUVIERON UNA EFICACIA MENOR AL 50% FRENTE AL TRATAMIENTO CON EL PRODUCTO COMERCIAL “OXY”**

De acuerdo a los datos obtenidos durante las cuatro semanas de tratamiento del acné en los pacientes que tuvieron una eficacia menor al 50% podemos notar que en los dos tratamientos tenemos una reducción del número de granos.



**GRÁFICO No. 13 COMPARACIÓN DEL PORCENTAJE DE EFICACIA DEL TRATAMIENTO DEL GEL DE CALAGUALA FRENTE AL TRATAMIENTO DE ACNÉ CON GEL COMERCIAL “OXY”**

Como podemos ver en el gráfico No. 13 el porcentaje de reducción de granos con el tratamiento con gel de calaguala es del 15.48% y con el gel comercial “OXY” es de 20.18% obteniéndose una diferencia de apenas el 4.7%.

**TABLA No. 21 COMPARACIÓN DE EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON GEL DE CALAGUALA FRENTE AL TRATAMIENTO CON GEL COMERCIAL “OXY” MEDIANTE ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

ANOVA UN FACTOR					
Número de Casos:	12				
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	20.7507	1	20.7507	1.1948	0.3000
Dentro Grupos	173.6810	10	17.3681		
Total (corr.)	194.4317	11			
Método: LSD al 95.00%					
Grupos	N		Media	Homogéneos	
GEL DE CALAGUALA	6		20.1800	X	
GEL OXY	6		22.8100	X	

<b>Contraste</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límite</b>
<b>GEL DE CALAGUALA VS GEL OXY</b>	<b>-2.6300</b>	<b>5.3611</b>

De acuerdo al análisis estadístico de la comparación de tratamientos expuesto en la tabla No. 21 podemos determinar que tanto el tratamiento con gel de calaguala como el tratamiento con el gel comercial “OXY” son grupos homogéneos

## CAPÍTULO IV

### 4. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante la investigación realizada se puede concluir que:

1. Al realizar el control de calidad de la droga cruda pulverizada de rizoma de Calaguala (*Campyloneurum amphostenon*), utilizado como materia prima para elaborar el fitomedicamento se obtuvo resultados satisfactorios de acuerdo a la USP·27. Considerando que la humedad es de 0.6383% esto permite que la droga se conserve de mejor manera ya que al poseer una baja humedad la proliferación de microorganismos es casi nula lo que garantiza una materia prima optima para un producto farmacéutico. (Cuadro No.1)
2. De acuerdo al tamizaje fitoquímico realizado en el extracto de Calaguala (*Campyloneurum amphostenon*), se determino la presencia de compuestos importantes como Alcaloides, Lactonas y cumarinas, Flavonoides, Triterpenos y esteroides, Saponinas, Taninos, Grupos reductores y aldehídos; siendo de nuestro

mayor interés los Flavonoides ya que son estos compuestos quienes definen la actividad antiinflamatoria utilizada para nuestro objetivo. (Cuadro No. 8)

3. La identificación del principio activo se lo realizó mediante cromatografía en capa fina demostrando la presencia de Flavonoides en el extracto y el gel antiacné a base de Calaguala (*Campyloneurum amphostenon*), además de su cuantificación con un porcentaje de 1.91% lo cual es favorable para realizar su actividad (Cuadro No. 13)
4. Al realizar el control de calidad de los excipientes: carbopol 940, trietanolamina (TEA), dimeticona, alcohol potable, se concluye que se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la USP XXVIII cumpliendo las características de calidad para la elaboración de los fitofármacos. (Cuadro No. 9,10,11)
5. En el producto terminado se realizó los diferentes ensayos de control de calidad tanto parámetros físico-químicos como microbiológicos, concluyendo que cumple con los requisitos establecidos, por lo que el gel se encuentra en óptimas condiciones para su uso. (Cuadro No. 14,15,16,17,18)
6. Acorde a los resultados obtenidos al realizar el análisis estadístico la actividad del gel antiacné a base de Calaguala es favorable para dicho tratamiento existiendo una mayor eficacia en pacientes con un tipo de acné moderado. (Tabla 7, 9, 11, 13)
7. Al realizar el análisis de varianzas y test de Tukey 0.05 se determina que los promedios de eficacia de cada concentración se encuentra en un grupo similar por lo tanto la actividad del gel de Calaguala es independiente de su concentración. (Tabla 12,13, 15)
8. De acuerdo con el análisis estadístico realizado mediante ANNOVA y Test de Tukey el tratamiento para el acné con gel de Calaguala es más efectivo que el

tratamiento con placebo ya que existe una diferencia significativa en su actividad. (Tabla No. 14, 16. Cuadro No. 10, 11)

9. Acorde con los resultados obtenidos en el análisis estadístico de la comparación del tratamiento con gel de calaguala para el acné frente al tratamiento con gel comercial "OXY" determinamos que no existe una diferencia estadísticamente significativa, y que son grupos homogéneos por lo tanto los dos tratamientos tienen una eficacia similar y son adecuados para dicha enfermedad. (Tabla No.21)
  
10. Concluida la investigación sobre la utilización del gel antiacné a base de Calaguala (*Campyloneurum amphostenon*), se afirma la hipótesis ya que existe una considerable mejora en las personas afectadas por dicha enfermedad y la disminución de los granos producidos por el acné. Lo que afirma su eficacia terapéutica.

## CAPÍTULO V

### 5. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar todo producto fitoquímico siguiendo las normas establecidas para dichos productos, para obtener así productos de calidad
2. Realizar análisis complementarios sobre la actividad del gel a base de Calaguala (*Campyloneurum amphostenon*), respecto a pruebas de estabilidad.
3. Investigar más a fondo sobre los beneficios terapéuticos de la planta de Calaguala (*Campyloneurum amphostenon*), ya que no existe una referencia amplia sobre esta planta.
4. Complementar estudios de la planta de Calaguala (*Campyloneurum amphostenon*), con respecto al acné en otras formas farmacéuticas.
5. Se recomienda el uso del gel siguiendo estrictamente las especificaciones dadas.

## CAPÍTULO VI

### 6. RESUMEN

El proyecto de investigación se realizó en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en los Laboratorios de la Facultad de Ciencias con el fin de elaborar y determinar la eficacia in vivo de un gel para el acné a base de Calaguala (*Campyloneurum amphostenon*). Para lo cual se realizó la extracción de los componentes activos de la planta seca mediante percolación y su respectivo control de calidad tanto físico-químico como microbiológico. La elaboración del gel se lo realizó con el extracto y excipientes los cuales fueron sometidos a pruebas de control de calidad.

La cuantificación del marcador químico se lo realizó mediante métodos espectrofotométricos obteniéndose resultados positivos, al igual que la evaluación de la eficacia in vivo en 40 personas voluntarias, que fueron sometidas a un riguroso tratamiento por un tiempo de ocho semanas mediante controles semanales de conteo de granos y por simple visualización y además la comparación frente a un producto

comercial OXY; por lo tanto el control de calidad se lo realizó de acuerdo a lo especificado en la Norma Ecuatoriana de Fitofármacos y la Farmacopea Americana XXVIII.

Por lo tanto se demuestra que existe una considerable mejora en las personas afectadas por dicha enfermedad y la disminución de los granos producidos por el acné. Lo que afirma su eficacia terapéutica, por lo que se recomienda realizar pruebas de estabilidad acelerada con el fin de alargar la vida útil del producto.

## **SUMARY**

The investigation project was carried out at the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo at the Laboratories of the Science Faculty to elaborate and determine the efficacy in vivo of a gel for the acne based on Calaguala (*Campyloneurum amphostenon*). For this extraction of active components of dry plant through percolation and its corresponding physical, chemical and microbiological quality control. The gel elaboration was performed with the extract and excipients which were subjected to quality control test. The chemical marker quantification was conducted through the spectrophotometric methods with positive results, as well as the physical evaluation of the efficacy in vivo in 40 voluntary people who were subjected to a rigorous treatment for eight weeks through weekly controls of grain counting and simple display together with the comparison against the commercial product OXY; therefore the quality control was carried out according to the Ecuatiran Norm for phytomedicines and the Pharmacopea Americana XXVIII. Therefore it is shown that there is a considerable improvement in people affected by such a disease and the decrease of grains produced by acne, which stresses its therapeutical efficacy; this is why it is recommended to carry out accelerated stability tests to lengthen the product service life.

## CAPÍTULO VII

### 7. BIBLIOGRAFÍA

#### 1. ACNÉ

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000873.htm>  
2010/30/10

#### 2. ACNÉ Y DIETA

<http://www.laboratoriossthea.com/archivos/publicaciones/00055.pdf>  
2009/05

#### 3. ALDANA F. “Detección y cuantificación de flavonoides en *Polypodium*

*triseriale* swartz, *Phlebodium decumanum* (willd.) J. Sm. y *Phlebodium pseudoaureum* (cav.) Lellinger; tres especies de calaguala nativas de Guatemala”. Tesis. Máster multidisciplinario en producción y uso de plantas medicinales. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Escuela de Estudios de Postgrados. 2007. Pp 3-22

4. **ALONSO J.** Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. Primera edición.  
Editorial Carpus Libros. Rosario,-Argentina. 2004. pp. 244-247
  
5. **ALVARADO B.** “Estudios Químicos sobre Algunas Especies de Calaguala”. Tesis de Graduacion. Bioquímico Farmacéutico. Honduras. Universidad Nacional Autonoma de Honduras. Escuela de Bioquímica y Farmacia. 1968. pp. 1-2.
  
6. **BIODIVERSIDAD**  
<http://www.farmafitolab.med.uchile.cl/fitofarmacologia.fitoterapia.html>  
2007/05/02
  
7. **BUSTAMANTE, F.** Manual sobre el uso de las plantas medicinales. Editorial Isnaya, Managua,-Nicaragua, 2002. pp. 212-216.
  
8. **BRUNETON, J.** Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales. Océano Ibbis ediciones, Zaragoza,-Acribia, 2005 pp. 48-51
  
9. **CÁCERES, A.** et al. Propuesta de monografías farmacopéicas de 10 especies vegetales de Centroamérica. Editorial Presencia, Guatemala, 2006. pp.50-63
  
10. **CALAGUALA**  
<http://www.yinyangperu.com/calahuala.htm>  
2000/03/03
  
11. **CARBOPOL**  
[http://geic.com/files/fichasproductos/Carbopol\\_Ultrez\\_21\\_hoja\\_tecnica.pdf](http://geic.com/files/fichasproductos/Carbopol_Ultrez_21_hoja_tecnica.pdf)  
f  
2002/11/06

**12. CARRIÓN P,** “Elaboración y control de calidad de un gel para el acné a base de matico (*Eupatorium glutinosum*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*)”. Tesis. Bioquímico Farmacéutico. Riobamba. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia, 2008. pp. 6-28

**13. CHAPALBAY, E.** Elaboración de un gel de aloe para tratamiento del acné.  
<http://www.medicina.usmp.edu.pe/congresomundial/000data/temlib.htm>.  
2007/05/28.

**14. CONTROL DE CALIDAD.**

<http://www.calidad/eucerin.es/produccion/galening.html>.  
2007/06/17

**15. CONTROL DE FORMULACIONES**

<http://www.ffyb.uba.ar/farmacotecnia%2014/controlformulaciones%5B4tm>  
2007/08/23

**16. CRUZ, P.** “Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Matico (*Aristiguetia glutinosa*) y Marco (*Ambrosia arborescens*) para Neo-Fármaco”. Tesis Bioquímico Farmacéutico. Riobamba. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. 2009. pp. 23-27, 43-47.

**17. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDEOS TOTALES: ARANEO P.**

[http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol34\\_1\\_00/far07100.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol34_1_00/far07100.htm).  
2007/08/08

**18. DIMETICONA**

<http://www.cienciaexplicada2001/08/dimeticona.html>

2011/08

**19. EL ACNÉ**

<http://es.wikipedia.org/wiki/Acn%C3%A9>

2011/04/10

**20. FITOMEDICAMENTOS.**

<http://www.botanical-online.com/medicinalesestres.html>

2007/06/20

**21. FITOTERAPIA**

<http://www.otramedicina.com/2010/03/06/definicion-de-fitoterapia>

2010/03/06

**22. FLAVONOIDES:** fuente de salud de origen vegetal.

<http://www.aldia.atonra.com/?p=374>

2007/11/09

**23. FORMAS FARMACÉUTICAS**

<http://www.slideshare.net/elfoxy99/formas-farmaceuticas-presentation>

2003/08/04

**24. FORMAS FARMACÉUTICAS Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN**

<http://www.farma.uma.es/medicamentos05.htm>

2009/05/21

**25. FITOTERAPIA: conceptos**

<http://farmafitolab.med.uchile.cl/fitofarmacologia/fitoterapia.html>

2002/04/17

**26. HOUSE, P.** Manual popular de cincuenta plantas medicinales de Honduras.

Editorial Suyapa, Tegucigalpa,-Honduras, 1990. pp. 134

**27. LA FITOTERAPIA COMO HERRAMIENTA TERAPÉUTICA**

[http://www.nexusediciones.com/pdf/gine2005\\_1/gi-6-1-004.pdf](http://www.nexusediciones.com/pdf/gine2005_1/gi-6-1-004.pdf)

2005/01

**28. LÓPEZ, O.; MUÑOZ, A.** Obtención y escalado del extracto seco de

C. Officinalis L. Rev. Club de Química. vol. 19, no. 1, marzo, 2007 pp.

71-73.

**29. LA MEDICINA NATURAL Y SU DEMANDA**

[http://www.monografias.com/trabajos34/medicina-natural/medicina-](http://www.monografias.com/trabajos34/medicina-natural/medicina-natural.shtml)

[natural.shtml](http://www.monografias.com/trabajos34/medicina-natural/medicina-natural.shtml)

2010/06

**30. LA MEDICINA NATURAL ESTÁ DE MODA.**

[http://www.revistainterforum.com/espanol/articulos/artvegano\\_020501.ht](http://www.revistainterforum.com/espanol/articulos/artvegano_020501.html)

[ml](http://www.revistainterforum.com/espanol/articulos/artvegano_020501.html)

2010/08

**31. LEVER, W.F.** Histopatología de la piel. quinta ed. Editorial Inter-médica,

Buenos Aires-Argentina, 1979. pp: 241

**32. LOCK, O.** Investigación fitoquímica; métodos en el estudio de productos

naturales. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú, 1994. pp 111-144

**33. MAHABIR, P.** Doscientas setenta plantas medicinales iberoamericanas. Editorial

Presencia, Santafé-Colombia, 1995. pp. 451-453

**34. MARTÍNEZ, S.** et al. Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes.

Editorial Errepar. San Miguel de Tucuman-Argentina, 2002. pp. 271-278

**35. MEDICINA NATURAL Y APLICACIONES.**

<http://geosalud.com/medicinatural/Medicina%20Natural.htm>  
2006/01

**36. MEDICINA NATURISTA.**

<http://www.medicina-naturista.net/>  
2006/07

**37. MEDICINA ALTERNATIVA Y DEMANDA EN PRODUCTOS.**

[http://www.mediks.com/saludyvida/chat/articulo.php?id=336&llave\\_seccion=19](http://www.mediks.com/saludyvida/chat/articulo.php?id=336&llave_seccion=19)  
2008/03

**38. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS A PARTIR DE PLANTAS  
MEDICINALES**

<http://www.monografias.com/trabajos66/extractos-plantas-medicinales/extractos-plantasmedicinales2.shtml>  
2001/11/20

**39. PLANTAS MEDICINALES:** antigua y nueva alternativa de salud

<http://www.saludparati.com/plantasmedi1.htm>  
2008/03/25

**40. PLANTAS MEDICINALES**

<http://www.infojardin.net/fichas/plantasmedicinales/polypodium-calaguala.htm>  
2006/08/15

[http://www.medicinanaturista.net/salon\\_lectura/medicina\\_naturista\\_fitoterapia.pdf](http://www.medicinanaturista.net/salon_lectura/medicina_naturista_fitoterapia.pdf)

2007/07/10

[http://www.podernatural.com/Plantas\\_%20Medicinales/Plantas\\_C/p\\_cana\\_santa.htm](http://www.podernatural.com/Plantas_%20Medicinales/Plantas_C/p_cana_santa.htm)

2005/05/03

**41. PREPARACIONES FARMACÉUTICAS ELABORADAS CON BASE EN PRODUCTOS NATURALES: regulación sanitaria**

<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/derecho/dere1/Tesis31.pdf>

2000/10

**42. PARDO, A.** Plantas Medicinales. Editorial Everest, La Coruña-España, 2006.  
pp. 98-99

**43. SÁNCHEZ, A. GÓMEZ, P.** Bases para la atención farmacéutica del acné vulgar. Ediciones Díaz de Santos. 2000. pp. 27

**44. SAÚL, A.** Lecciones de dermatología, décima edic. Edit. Méndez Cervantes, Mex. ; D.F. 1985. pp: 495-510

**45. SHALLICE, D.** Tratamiento de la psoriasis y el vitiligo. Primera edición. Ediciones Dlema. 2010. pp. 15-17

**46. STRAUSS, J;** et al. Glándulas Sebáceas, en: Fitzpatrick, T. Dermatología en Medicina General, tomo 1, Edit., Panamericana, Buenos Aires, Argentina. 2010. pp. 503-520

**47. TRIETANOLAMINA**

[http://www.andesia.com/doc/quimicos/HojaSeguridad\\_trietanolamina.pdf](http://www.andesia.com/doc/quimicos/HojaSeguridad_trietanolamina.pdf)

2009/08/20

**48. TRATAMIENTO DEL ACNÉ**

<http://tratamientoacneblog.blogspot.com/2011/03/tratamiento-del-acne.html>

2011/03

## CAPÍTULO VIII

### 8. ANEXOS

ANEXO No 1 PROCESO DE OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA LA ELABORACIÓN DEL GEL ANTIACNÉ A BASE DE CALAGUALA

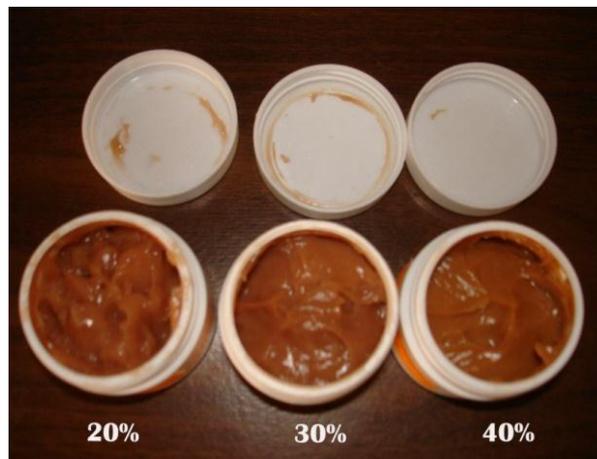
FOTOGRAFÍA Nº 4 PROCESO DE ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DE CALAGUALA MEDIANTE PERCOLACIÓN



FOTOGRAFÍA No. 5 CONCENTRADO DEL EXTRACTO MEDIANTE ROTAVAPOR



**FOTOGRAFÍA No. 6 PRODUCTO TERMINADO Y ENVASADO. GEL DE CALAGUALA A DIFERENTES CONCENTRACIONES**



**ANEXO No. 2 CONTROL DE CALIDAD DEL GEL DE CALAGUALA**

**FOTOGRAFÍA No. 7 DETERMINACIÓN DEL pH EN EL GEL DE CALAGUALA CON UN POTENCIÓMETRO**



**FOTOGRAFÍA No. 8 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD MEDIANTE UN VISCOSÍMETRO**



**FOTOGRAFÍA No. 9 CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO**



**FOTOGRAFÍA No. 10 IDENTIFICACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO MEDIANTE CÁMARA UV**



**ANEXO No. 3 PROCESO DE EVALUACIÓN DE GEL DE CALAGUALA**

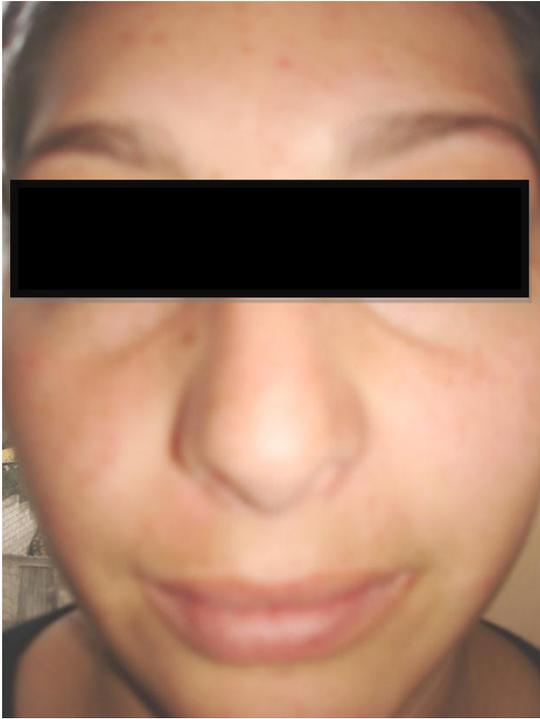
**FOTOGRAFÍA No. 11 PACIENTE TRATADO CON GEL DE CALAGUALA EN LA SEMANA 1**



**FOTOGRAFÍA No. 12 PACIENTE TRATADO CON GEL DE CALAGUALA EN LA SEMANA 3**



**FOTOGRAFÍA No. 13 PACIENTE TRATADO CON GEL DE CALAGUALA EN LA SEMANA 5**



**FOTOGRAFÍA No. 14 PACIENTE TRATADO CON GEL DE CALAGUALA EN LA SEMANA 8**

