

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

FORMULACIÓN DE UN GEL TÓPICO Y UN PARCHE TRANSDÉRMICO A
BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LAS RAÍCES DE
Acaulimalva engleriana (ALTEA) Y DETERMINACIÓN DE SU EFECTO
ANTIINFLAMATORIO

PRESENTADO POR:

Br. SINDER CALCINA GONZALES

Br. MYRIAN TACO CORREDOR

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

ASESORA:

Dra. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ

CUSCO – PERÚ

2025



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro. CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el Asesor Dra. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ
..... quien aplica el software de detección de similitud al
trabajo de investigación/tesis titulada: FORMULACION DE UN GEL TOPICO Y UN PACHE
TRANSDERMICO A BASE DEL EXTRACTO ETANOLICO AL 70% DE LAS RAICES DE
Acaulimaba angelenae (ALTEA) Y DETERMINACION DE SU EFECTO ANTIINFLAMATORIO

Presentado por: Dr. SINDER CALICHA GONZALES DNI N° 70668507
presentado por: Dr. MYRIAN TACO CORREDO DNI N° 7273726
Para optar el título Profesional/Grado Académico de QUIMICO FARMACEUTICO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por veces, mediante el
Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de**
Similitud en la UNSAAC y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 10 %.

**Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a
grado académico o título profesional, tesis**

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	☒
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	☐
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	☐

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 15 de ENERO de 2026


Firma

Post firma CARLA DEL CARPIO JIMENEZ

Nro. de DNI 23945000

ORCID del Asesor 0000-0001-7487-3548

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: oid: 27259.546295664

SINDER CALCINA GONZALES

FORMULACIÓN DE UN GEL TÓPICO Y UN PARCHE TRANSDÉRMICO A BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% ...

 Universidad Nacional Saj' Wacónio Muñ' del Cusó

Detalles del documento

Identificador de la entrega

Impaid: 27259546295664

187 páginas

Fecha de entrega

14 ene 2026, 8:24 p.m. GMT-5

34.278 palabras

Fecha de descarga

14 ene 2026, 8:28 p.m. GMT-5

182.593 caracteres

Nombre del archivo

FORMULACIÓN DE UN GEL TÓPICO Y UN PARCHE TRANSDÉRMICO A BASE DEL EXTRACTO ETÁNOL...pdf

Tamaño del archivo

4.0 MB

10% Similitud general

3 total combinado de todas las coincidencias, incluyas las fuentes superpuestas; para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 20 palabras)

Fuentes principales

- 10%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 3%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

4.º de alertas de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
135 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son instanciamos por caracteres similares de otro alfabeto.
-  **Texto oculto**
29 caracteres sospechosos en N.º de páginas
El texto es añadido para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitan distinguir de una entrega normal. Si vemos una longitud o lo marcamos como una alerta por lo que puede ocurrir.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problema. Sin embargo recomendamos que pague atención a la misma.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres, quienes han estado a mi lado en cada etapa, dándome el soporte, para enfrentar cada reto presentado, por alentarme y que con su sola presencia me inspiran a seguir y dar el siguiente paso.

A mi compañera de tesis, por demostrarme el valor de la amistad y de la confianza.

A mi asesora de tesis, por mostrarme su gran valía no solo como profesional sino también como ser humano. Su gran pasión por la investigación fue la inspiración para el desarrollo de esta tesis.

Bach. Sinder Calcina Gonzales

DEDICATORIA

A Dios, por guiarme en todo el proceso de la tesis, a mis padres Luis Taco T. y Lidia Corredor T. por brindarme siempre su apoyo incondicional, por que, gracias a sus consejos, enseñanzas puede culminar la tesis.

A mi pareja y a mis hijas porque son mi mayor motivo de superación, porque gracias a ellos pude alcanzar mi meta.

A mis hermanos por motivarme día a día y enseñarme que en esta vida todo se puede conseguir, que a pesar de las dificultades uno siempre tiene que levantarse y seguir adelante.

Bach. Myrian Taco Corredor

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a todas las personas quienes, directa o indirectamente, nos apoyaron en e proceso de elaboración y culminación de esta tesis:

A nuestra asesora, Dra. Carla Del Carpio Jimenez, por su apoyo constante, por todo el conocimiento y el aliento brindado.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica por acogernos en sus aulas y brindarnos todos los conocimientos necesarios para desenvolvemos en la tesis. De la misma forma a los docentes de las diferentes áreas por el apoyo en el acceso a los laboratorios, y el conocimiento brindado.

Las tesoristas

RESUMEN

El propósito de la investigación fue formular un gel tópico y parche transdérmico a base del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) y determinar su efecto antiinflamatorio.

Al extracto obtenido por maceración en etanol al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana*, se realizaron pruebas fisicoquímicas, determinando un 30.67% de humedad, 12.89% de porcentaje de extracción, muy alta solubilidad en etanol y acetona. Las pruebas fitoquímicas cualitativas revelaron presencia abundante de alcaloides y quinonas; flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides, y glicósidos en moderada cantidad. El Test de Draize mostró que el extracto no presenta toxicidad dérmica en la piel de cobayos albinos (*Cavia porcellus*), a concentraciones de 10, 20 y 30%.

Se determinó la concentración mínima efectiva del extracto mediante el test de edema auricular en la oreja de ratón inducida por TPA, divididos en 5 grupos (patrón, blanco, extracto al 2.5%, 5%, 10%), resultando el mejor la concentración 5% al reducir la inflamación en un 80.75%.

Las formulaciones fueron evaluadas fisicoquímica y organolépticamente. La formulación final del gel elaborado fue con carboximetilcelulosa, metilparabeno, propilparabeno y glicerina; y el parche transdérmico incluyó carboximetilcelulosa, carbopol, glicerina, etanol, ácido oléico.

Finalmente, el efecto antiinflamatorio de ambas formas farmacéuticas, fue evaluado por el método de inflamación inducida en oreja de ratón por TPA. El gel presenta el mismo efecto antiinflamatorio al fármaco patrón (diclofenaco 1%) y el parche presenta un efecto antiinflamatorio menor que el fármaco patrón (parche de diclofenaco), con reducciones de la inflamación de 90.06% y 20.9% respectivamente.

PALABRAS CLAVE: Efecto antiinflamatorio, *Acaulimalva engleriana*, Gel tópico, Parche transdérmico, Test de Draize.

ABSTRACT

The purpose of this research was to formulate a topical gel and transdermal patch based on a 70% ethanolic extract of *Acaulimalva engleriana* (marshmallow) roots and to determine its anti-inflammatory effect. Physicochemical tests were performed on the extract obtained by macerating *Acaulimalva engleriana* roots in 70% ethanol, determining a moisture content of 30.67%, an extraction percentage of 12.89%, and very high solubility in ethanol and acetone. Qualitative phytochemical tests revealed an abundant presence of alkaloids and quinones; flavonoids, phenolic compounds, steroids, and glycosides in moderate amounts. The Draize test showed that the extract did not exhibit dermal toxicity in the skin of albino guinea pigs (*Cavia porcellus*) at concentrations of 10, 20, and 30%.

The minimum effective concentration of the extract was determined using the TPA-induced ear edema test in mice, divided into five groups (control, control, and extracts at 2.5%, 5%, and 10%). The 5% concentration proved to be the most effective, reducing inflammation by 80.75%.

The formulations were evaluated physicochemically and organoleptically. The final gel formulation consisted of carboxymethylcellulose, methylparaben, propylparaben, and glycerin; the transdermal patch included carboxymethylcellulose, carbopol, glycerin, ethanol, and oleic acid.

Finally, the anti-inflammatory effect of both formulations was evaluated using the TPA-induced ear edema test in mice. The gel has the same anti-inflammatory effect as the standard drug (diclofenac 1%) and the patch has a lesser anti-inflammatory effect than the standard drug (diclofenac patch), with reductions in inflammation of 90.06% and 20.9% respectively.

KEYWORDS: Anti-inflammatory effect, *Acaulimalva engleriana*, Topical gel, Transdermal patch, Draize test.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
ABREVIATURAS.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
1 ASPECTOS GENERALES.....	4
1.1 Planteamiento del problema.....	4
1.1.1 Descripción del problema.....	4
1.1.2 Formulación del problema.....	5
1.2 Objetivos del estudio.....	5
1.2.1 Objetivo general.....	5
1.2.2 Objetivos específicos.....	5
1.3 Limitaciones de la investigación.....	6
1.4 Justificación de la investigación.....	6
1.4.1 Justificación teórica.....	6
1.4.2 Justificación práctica.....	6
1.4.3 Justificación metodológica.....	7
1.5 Hipótesis.....	7
2 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	8
2.1. Visión histórica.....	8
2.2 Antecedentes del estudio.....	9
2.2.1 Antecedentes internacionales.....	9
2.2.2 Antecedentes nacionales.....	12

2.2.3 Antecedentes locales.....	15
2.3 Estado de la cuestión.....	17
2.4 Bases teórico-científicas.....	18
2.4.1 Aspectos botánicos de la especie en estudio.....	18
2.4.2 Piel.....	20
2.4.3 Inflamación.....	23
2.4.4 Fármacos antiinflamatorios.....	27
2.4.5 Geles.....	30
2.4.6 Permeación percutánea.....	31
2.4.7 Promotores de la absorción.....	33
2.4.8 Sistemas Terapéuticos Transdérmicos.....	33
2.5 Consideraciones éticas en el manejo de animales de experimentación.....	38
2.5.1 Justificación de la necesidad de usar animales.....	38
2.5.2 Idoneidad de las especies seleccionadas.....	39
2.5.3 Macro y microambiente de ratones albinos.....	40
2.5.4 Reducción de sufrimiento innecesario.....	41
2.5.5 Finalización del procedimiento de experimentación.....	42
2.6 Definición de términos básicos.....	43
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
3.1 Materiales.....	44
3.1.1 Material botánico.....	44
3.1.2 Material biológico.....	44
3.1.3 Materiales de campo.....	44
3.1.4 Materiales y equipos de laboratorio.....	44
3.1.5 Reactivos.....	46
3.1.6 Droga empleada.....	47
3.1.7 Otros materiales.....	48

3.2 Diseño metodológico.....	48
3.2.1 Tipo de estudio.....	48
3.2.2 Presentación gráfica del diseño experimental.....	48
3.3 Identificación y operacionalización de variables.....	54
3.3.1 Variables independientes.....	54
3.3.2 Variables dependientes.....	56
3.3.3 Variables intervinientes.....	56
3.4 Criterios de inclusión y exclusión.....	63
3.4.1 De la muestra vegetal.....	63
3.4.2 De los animales de experimentación	63
3.5 Procedimiento.....	64
3.5.1 Procesamiento del material vegetal.....	65
3.5.2 Pruebas del extracto etanólico.....	67
3.5.3 Determinación de la concentración mínima efectiva antiinflamatoria del extracto etanólico al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (altea).....	71
3.5.4 Determinación de la toxicidad dérmica del extracto de etanolico al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (altea).....	74
3.5.5 Preformulación y formulación del gel.....	76
3.5.6 Preformulación y formulación del parche transdérmico.....	77
3.5.7 Control de calidad de las dos formas farmacéuticas elaboradas (gel y parche transdérmico).....	79
3.5.8 Evaluación del efecto antiinflamatorio de las dos formas farmacéuticas elaboradas (gel y parche transdérmico).....	82
3.6 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	85
3.7 Técnicas para el procesamiento y análisis estadísticas de la información.....	86
4 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	87
4.1 Determinación del porcentaje de humedad de las raíces de <i>Acaulimalva</i> <i>engleriana</i> (altea).....	87
4.2 Porcentaje de extracción.....	88

4.3 Pruebas de solubilidad.....	89
4.4 Prueba fitoquímica cualitativa.....	91
4.5 Determinación de la concentración mínima efectiva del extracto etanolico al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (altea).....	94
4.5.1 Formación de edema de los grupos experimentales.....	95
4.5.2 Análisis descriptivo de la formación de edema.....	96
4.5.3 Pruebas de ANOVA y TUKEY para la determinación de la concentración mínima efectiva del extracto etanólico al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (altea).....	97
4.5.4 Porcentaje de inhibición de la inflamación de los grupos experimentales.	98
4.5.5 Prueba de ANOVA para la determinación de la concentración mínima efectiva del extracto etanolico al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (altea).....	102
4.5.6 Prueba de TUKEY para la determinación de la concentración mínima efectiva del extracto etanolico al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (altea).....	104
4.6 Determinación de la toxicidad dérmica del extracto etanolico al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (altea).....	105
4.7 Preformulación y evaluación del gel.....	108
4.8 Preformulación del parche transdérmico.....	110
4.9 Control de calidad de las dos formas farmacéuticas elaboradas (gel y parche transdérmico).....	111
4.9.1 Control de calidad del gel tópico.....	112
4.9.2 Control de calidad del parche transdérmico.....	112
4.10 Evaluación del efecto antiinflamatorio de las dos formas farmacéuticas elaboradas (gel y parche transdérmico)	120
4.10.1 Formación de edema de los grupos experimentales.....	120
4.10.2 Análisis descriptivo de la formación de edema.....	122
4.10.3 Pruebas de ANOVA y TUKEY para la determinación del porcentaje de edematización.....	122

4.10.4 Porcentaje de inhibición de la inflamación de los grupos experimentales	124
4.10.5 Análisis descriptivo de los porcentajes de inhibición de la inflamación...	126
4.10.6 Pruebas de ANOVA y TUKEY para la determinación de la actividad antinflamatoria.....	128
CONCLUSIONES.....	130
RECOMENDACIONES.....	132
BIBLIOGRAFÍA.....	133
ANEXOS.....	147

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N°1	Muestra botánica de la especie en estudio.....	146
ANEXO N°2	Certificación del Herbario Vargas.....	147
ANEXO N°3	Certificación de los animales de experimentación (ratones albinos).....	148
ANEXO N°4	Certificación de los animales de experimentación (cobayos albinos).....	149
ANEXO N°5	Pruebas del análisis fitoquímico cualitativo de os extractos etanólicos al 70%.....	150
ANEXO N°6	Certificación del control microbiológico del gel.....	152
ANEXO N°7	Ficha de recolección de datos para determinación del porcentaje de humedad.....	153
ANEXO N°8	Ficha de recolección de datos de las pruebas de solubilidad.....	154
ANEXO N°9	Ficha de recolección de datos del análisis fitoquímico cualitativo.....	155
ANEXO N°10	Ficha de recolección de datos del porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto.....	156
ANEXO N°11	Ficha de recolección de datos del porcentaje de inhibición de la inflamación del gel y el parche transdérmico.....	157
ANEXO N°12	Determinación de toxicidad dérmica aguda mediante el TEST DE DRAIZE.....	158
ANEXO N°13	Determinación del efecto antiinflamatorio mediante el método del edema agudo en oreja de ratón inducido por aceite de croton (12-0- tetradecanoilforbol-13 acetato (TPA)).....	159
ANEXO N°14	Fotografías.....	160

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: Esquema de las capas de la epidermis.....	20
FIGURA 2: Tipos celulares de la epidermis.....	21
FIGURA 3: Estructura química del diclofenaco.....	27
FIGURA 4: Esquema de un parche transdérmico.....	33
FIGURA 5: Esquema de un sistema de reservorio.....	34
FIGURA 6: Esquema de sistema matricial.....	34
FIGURA 7: Esquema de sistema de liberación controlada vía matriz.....	35
FIGURA 8: Esquema de sistema de difusión controlada mediante micro reservorio.....	35
FIGURA 9: Gráfico de barras de la formación de edema de los grupos experimentales.....	94
FIGURA 10: Gráfico de barras del porcentaje de inhibición de la inflamación de los grupos experimentales.....	100
FIGURA 11: Curva de espectro del parche transdérmico tras la disolución.....	113
FIGURA 12: Absorbancias del blanco.....	115
FIGURA 13: Absorbancias del parche de diclofenaco.....	116
FIGURA 14: Curvas de concentración vs tiempo del parche al 2.5% muestra a y b.....	116
FIGURA 15: Curvas de concentración vs tiempo del parche al 5% muestras a y b	117
FIGURA 16: Curvas de concentración vs tiempo del parche al 10% muestras a y b	117
FIGURA 17: Perfil de disolución vs tiempo de las muestras.....	118

ÍNDICE DE FLUJOGRAMAS

FLUJOGRAMA 1: Esquema central del proyecto de investigación	63
FLUJOGRAMA 2: Esquema de obtención del extracto etanólico.....	64
FLUJOGRAMA 3: Pruebas al extracto etanólico-esquema.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1: Mediadores químicos de la inflamación.....	24
TABLA N°2: Capacidad de penetración transdérmica.....	31
TABLA N°3: Clasificación de promotores.....	32
TABLA N°4: Reacciones adversas relacionadas al uso de STT	36
TABLA N°5: Operacionalización de las variables.....	57
TABLA N°6: Solventes más utilizados para pruebas de solubilidad.....	68
TABLA N°7: Reactivos usados en la prueba fitoquímica cualitativa.....	69
TABLA N°8: Distribución de grupos para evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico al 70% de raíces de <i>Acaullimalva engleriana</i> (ALTEA)	71
TABLA N°9: Escala de valoración de la irritación primaria (SPI) (TEST DE DRAIZE) para la evaluación de reacciones dérmicas.....	74
TABLA N° 10: Categorías de índice de irritación primaria (PII)	75
TABLA N°11: Distribución de grupos para la evaluación del efecto antiinflamatorio de las dos formas farmacéuticas elaboradas.....	82
TABLA N°12: Determinación del porcentaje de humedad de las raíces de <i>Acaullimalva engleriana</i> (ALTEA).....	86
TABLA N°13: Porcentaje de extracción de las raíces de <i>Acaullimalva engleriana</i> (ALTEA).....	87
TABLA N°14: Solubilidad del extracto etanólico al 70% de las raíces de <i>Acaullimalva engleriana</i> (ALTEA).....	88
TABLA N°15: Prueba fitoquímica cualitativa del extracto etanólico al 70% de raíces de <i>Acaullimalva engleriana</i> (ALTEA).....	90

TABLA N°16: Formación de edema de los grupos de experimentales, pesos de las orejas tratadas y no tratadas.....	93
TABLA N°17: Resultados estadísticos de la formación de edema.....	95
TABLA N°18: Prueba de Anova para determinar la concentración mínima efectiva del extracto etanolico al 70%de raíces de <i>Acaullimalva engleriana</i> (ALTEA).....	96
TABLA N°19: Prueba de Tukey para determinar la concentración mínima efectiva del extracto de <i>Acaullimalva engleriana</i> (ALTEA).....	96
TABLA N°20: Porcentajes de inhibición de la inflamación de los grupos experimentales.....	99
TABLA N°21: Análisis de varianza (Anova) del porcentaje de inhibición de la inflamación de los grupos experimentales	101
TABLA N°22: Prueba de Tukey para determinar la concentración mínima efectiva del extracto etanolico al 70% de raíces de <i>Acaullimalva engleriana</i> (altea).....	103
TABLA N°23: Ensayo de irritación dérmica aguda de cobayos albinos del extracto etanolico al 70% de raíces de <i>Acaullimalva engleriana</i> (altea)-concentración de 10%.....	104
TABLA N°24: Ensayo de irritación dérmica aguda en cobayos albinos del extracto etanolico al 70% de raíces de <i>Acaullimalva engleriana</i> (altea)-concentración de 20%.....	104
TABLA N°25: Ensayo de irritación dérmica aguda en cobayos albinos del extracto etanolico al 70% de raíces de <i>Acaullimalva engleriana</i> (altea)-concentración de 30%.....	105
TABLA N°26: Determinación del índice de irritación primaria (IIP) mediante el test de Draize.....	105
TABLA N°27: Preformulaciones y formulación del gel	107
TABLA N°28: Preformulaciones y formulación de los parches transdérmicos.....	109
TABLA N°29: Control de calidad de gel tópico al 5%.....	110
TABLA N°30: Control de calidad del parche transdérmico.....	111
TABLA N°31: Absorbancias de las muestras vs tiempo.....	114
TABLA N°32: Promedio de absorbancias de las muestras vs tiempo.....	115

TABLA N°33: Formación de edema de los grupos experimentales pesos de las orejas tratadas y no tratadas.....	119
TABLA N° 34: Análisis descriptivo de la formación de edema.....	121
TABLA N°35: Prueba de ANOVA para determinar porcentaje de edematización	121
TABLA N°36: Prueba de Tukey para determinar porcentaje de edematización....	122
TABLA N°37: Porcentajes de inhibición de inflamación de los geles y parches elaborados.....	124
TABLA N°38: Análisis descriptivo de los porcentajes de inhibición de la inflamación.....	126
TABLA N°39: Prueba de ANOVA para determinación de la actividad antiinflamatoria.....	127
TABLA N°40: Prueba de Tukey para determinar la actividad antiinflamatoria del gel y parche transdérmico.....	127

ABREVIATURAS

STT	: Sistemas Terapéuticos Transdérmicos
TPA	: 12-0- tetradecanoil forbol-13 acetato (Aceite de Crotón)
SPI, PII, IIP	: Índice de Irritación Primaria
PVA	: Polivinil alcohol
DMSO	: Dimetil Sulfoxido
NO	: Óxido nítrico
TNF	: Factor de necrosis tumoral
PAF	: Factor activador de plaquetas
CMC	: Carboximetilcelulosa
AO	: Alcohol oléico
ANOVA	: Analisis por varianza
AINES	: Antiinflamatorios no esteroideos
PGE2	: Prostaglandina E2
PGD2	: Prostaglandina D2
PGI2	: Prostaglandina I2 (prostaciclina)
LTC4	: Leucotrieno C4
LTD2	: Leucotrieno D2
LCE4	: Leucotrieno E4
IL – 1	: Interleucina 1
COX – 1	: Ciclooxygenasa 1
COX – 2	: Ciclooxygenasa 2
MHC – II	: Moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II

INTRODUCCIÓN

En este momento la medicina tradicional es un recurso sustancial para la salud humana. Los árboles y plantas utilizados empíricamente por los pobladores “son fundamentales para el avance de la medicina moderna; en áreas rurales y aborígenes, ante la ausencia de instituciones médicas y la falta de recursos económicos para obtener la medicina moderna, son los únicos recursos disponibles para ellos” (1).

El Perú hace alarde de una variedad de especies, ecosistemas y recursos genéticos, situándose entre los 10 países más biodiversos del mundo (2). El diez por ciento de flora reconocidas a nivel mundial se hallan en nuestro país y con menos del uno por ciento del área global terrestre, aloja 20 375 especies de plantas vasculares; en otros términos, el 7.5 % del total registrado mundialmente. De las cuales, al menos 5 509 son endémicas (3). Tal biodiversidad, convierte al país en un distribuidor esencial de recursos genéticos elevadamente inestimables para el sector biotecnológico, debido a, que alrededor de 400 especies de plantas nativas son esencialmente utilizables para la industria farmacológica (3), para citar algunas: maca (*Lepidium meyenii*) que es la que ostenta el mayor número de estudios farmacológicos publicados en el país con mayor énfasis en cáncer de próstata,, enfermedades renales y tratamiento de osteoporosis (4), seguido del matico (*Jungia paniculata*) por sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios, la hierba santa (*Piper auritum*), la sangre de grado (Crotón lechleri), uña de gato (*Uncaria tomentosa*), chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*) (4).

La inflamación es una reacción del organismo ante una lesión o a una infección en el tejido (5). El proceso inflamatorio comprende una serie de sucesos inespecíficos producidos por diversos agentes o ataques del entorno (isquemia, agentes biológicos, interacciones entre antígenos y anticuerpos, traumatismo, y lesiones de tipo físico, químico o térmico) (6). En los últimos años, el interés científico por la actividad antiinflamatoria ha crecido en farmacología y la industria farmacéutica, especialmente la necesidad de encontrar nuevas

moléculas de origen natural con mecanismos de acción diferentes y con nuevas formas farmacéuticas que sean mejor aceptadas por el paciente, que ocasionen menos reacciones adversas y con baja toxicidad (6) (7).

Acaulimalva engleriana es una planta endémica de la región andina que tiene diversas aplicaciones en medicina tradicional al que le atribuyen una peculiaridad antiinflamatoria, cicatrizante, antifúngica, antibacteriana, entre otros (8).

A través de la presente investigación, buscamos formular un gel tópico y un parche transdérmico a base del extracto etanólico de *Acaulimalva engleriana* (Altea) con la finalidad de validar su efecto antiinflamatorio.

CAPÍTULO I

ASPECTOS GENERALES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Actualmente, uno de los problemas más relevantes que impacta a nuestra sociedad, es el abuso indiscriminado de los antiinflamatorios no esteroideos mejor conocidos como AINEs, los cuales vienen a ser uno de los fármacos más comercializados globalmente(9); un 70% de los últimos artículos publicados, muestran que la prevalencia de la automedicación supera el 50% (10). Los AINEs corresponden a un conjunto muy grande de fármacos, que a su vez están entre los que más efectos adversos ocasionan (9), los usados con mayor frecuencia son la aspirina, diclofenaco, ketorolaco, naproxeno e ibuprofeno, siendo además los que mayormente producen reacciones adversas como la gastro duodenitis, sangrado digestivo y úlcera gástrica (7). Frente a esta situación, la industria farmacéutica, tiene la necesidad de buscar nuevas moléculas con mecanismos de acción diferentes y con nuevas formas farmacéuticas, que sean mejor aceptadas por el paciente, que ocasionen menos reacciones adversas y, con baja toxicidad (7).

Hoy en día, las formas farmacéuticas de los antiinflamatorios tópicos son muy variadas, manteniéndose aún algunas formas clásicas como cremas, pomadas y geles, junto a otros más modernos, como espray, roll-on, linimentos e incluso parches adhesivos (11). Dentro de estas nuevas formas farmacéuticas están los sistemas transdérmicos, que en los últimos años se han convertido en una tecnología que ofrece beneficios clínicos significativos al ejercer un efecto en los estratos más profundos de la piel (12)

Dentro de este contexto, es que buscamos formular dos formas farmacéuticas de aplicación tópica, un gel y un parche transdérmico en base al extracto etanólico al 70 % de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea), tomando en

consideración las ventajas que tendrán frente a las formas orales: menos reacciones adversas, uso sencillo e indoloro. Asimismo, es de nuestro interés determinar su efecto antiinflamatorio mediante estudios experimentales.

1.1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

- ¿Presentarán efecto antiinflamatorio el gel tópico y el parche transdérmico a base del extracto etanólico al 70% de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea)?

1.2 OBJETIVOS DEL ESTUDIO

1.2.1 OBJETIVO GENERAL

- Formular un gel tópico y un parche transdérmico a base del extracto etanólico al 70 % de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) y determinar su efecto antiinflamatorio.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener el extracto etanólico al 70% de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) y realizar las pruebas preliminares de porcentaje de humedad, porcentaje de extracción, solubilidad y pruebas fitoquímicas cualitativas
2. Determinar la concentración mínima efectiva antiinflamatoria del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) mediante el test de edema auricular en oreja de ratón inducido por aceite de croton.
3. Determinar la toxicidad dérmica aguda del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) en la piel de cobayos albinos de la especie *Cavia porcellus*.
4. Realizar la pre-formulación y elaboración del gel tópico y del parche transdérmico a base del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea).

5. Realizar el control de calidad del gel tópico y del parche transdérmico formulados a base del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea).
6. Determinar el efecto antiinflamatorio del gel tópico y del parche transdérmico formulados a partir del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) en la inflamación inducida por aceite de croton en ratones albinos.

1.3 LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

- No se realizaron la totalidad de las pruebas y análisis de control de calidad al parche transdérmico por falta de equipos, pero se consideraron las más relevantes.
- El estudio se vio limitado por la falta de ciertos excipientes, específicamente promotores de absorción (Eudragit E100, quitosano) necesarios para la formulación óptima del parche transdérmico. Sin embargo se utilizó otros promotores de absorción válidos como polivinilalcohol, alcohol oléico y dimetilsulfóxido.

1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1 JUSTIFICACIÓN TEÓRICA

El propósito principal de la investigación fue formular tanto un gel tópico como un parche transdérmico, ambos elaborados a partir del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) y demostrar el efecto antiinflamatorio de las dos formas farmacéuticas y así aportar conocimiento científico y antecedentes para la realización de futuras investigaciones. Así mismo, otro importante propósito que se desprendió de este trabajo de investigación es la validación de los conocimientos terapéuticos de los pobladores altoandinos sobre *Acaulimalva engleriana* relacionados con el tratamiento de los procesos inflamatorios.

1.4.2 JUSTIFICACIÓN PRÁCTICA

Al formular el gel tópico y el parche transdérmico, determinar el efecto antiinflamatorio de las mismas, y realizar su control de calidad, este trabajo de investigación servirá como una guía para estudios posteriores en las áreas de farmacología, toxicología y principalmente en industria farmacéutica al desarrollar una forma farmacéutica innovadora como es el parche transdérmico. De esta forma, puede funcionar como base para otros investigadores que quieran explorar más a fondo este tema de investigación o afines.

1.4.3 JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA

Este trabajo de investigación presenta metodología y protocolos que pueden ser utilizados por futuros investigadores brindando información sobre el proceso de pre-formulación, formulación de un gel tópico y parche transdérmico, así como el control de calidad y la respuesta farmacológica de estas formas tópicas en animales de experimentación.

1.5 HIPÓTESIS

- El gel tópico y el parche transdérmico formulado a base del extracto etanólico al 70 % de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) presentan efecto antiinflamatorio.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1 VISIÓN HISTÓRICA

En el Perú, como parte de nuestra cultura andina, se viene usando las plantas medicinales desde la antigüedad, estas plantas por sus virtudes eran honradas y reconocidas y sus propiedades se han ido pasando de una generación a otra. Dentro de estas plantas, *Acaulimalva engleriana* viene siendo utilizada tradicionalmente para alivio de procesos inflamatorios y afecciones de la piel. La primera especie de *Acaulimalva* descrita fue *Acaulimalva acaulis* por Cavanilles en 1786 en un material coleccionado por Dombey en la cordillera de los Andes Peruanos. Sin embargo recién para el año 1856 A. Gray aumenta el conocimiento de este grupo al describir varias especies coleccionadas en un viaje que realizaron desde Lima a Cerro de Pasco (13). En America Latina el Ing. Antonio Krapovickas centró sus estudios en la taxonomía de la familia Malvaceae, llegando a realizar importantes contribuciones en las ciencias biológicas entre los años 1960 a 2000, incluyendo la descripción de *Acaulimalva engleriana* en 1974 en la revista Darwiniana (14).

La aplicación de fármacos vía cutánea tiene origen en las antiguas grandes civilizaciones como la Egipcia, Griega y China quienes aplicaban ungüentos, cataplasmas y emplastos con fines terapéuticos. Si bien durante el siglo XIX se iniciaron estudios sobre la permeabilidad de la piel, recién a mediados del siglo XX se comprendieron mejor los mecanismos de difusión de fármacos a través de la piel (15). En 1979 la FDA aprobó el primer parche transdérmico comercial de escopolamina para la prevención del mareo por movimiento. Este hecho marcó el inicio de la terapia transdérmica moderna (16).

2.2 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

- **PARCHES POLIMÉRCOS BICAPA CARGADOS CON NANOPARTÍCULAS DE PROPÓLEO PARA EL TRATAMIENTO DE HERIDAS EN RATAS *Wistar* DIABÉTICAS. Sanchez S. Tesis. México. 2024 (13)**

El propósito de esta investigación fue evaluar el uso de parches poliméricos bicapa cargados con nanopartículas de propóleo para uso tópico en procesos de cicatrización de ratas *Wistar* diabéticas.

El estudio incluyó la recolección y análisis del propóleo siguiendo los criterios y lineamientos de calidad de la Norma Oficial Mexicana, utilizando como modelo experimental ratas hembra con diabetes inducida, a las cuales se les practicaron heridas controladas de 4mm. Los animales se dividieron en cinco grupos experimentales, incluyendo controles sanos y diabéticos sin tratamiento, así como grupos tratados con diversas formulaciones de parches. Los resultados evidenciaron una mejora significativa en la cicatrización en los grupos tratados con parches, especialmente aquellos que contenían nanopartículas de propóleo, observándose una reducción en la inflamación y signos dérmicos, así como mejoras en la elasticidad, hidratación y humectación de la piel. El estudio concluye que la combinación de parches bicapa, nanopartículas y propóleo representa una alternativa prometedora para el tratamiento de heridas de difícil cicatrización, con potencial aplicación clínica bajo supervisión terapéutica adecuada.

- **PARCHES TRANSDÉRMICOS: REVISIÓN ACTUALIZADA COMO UN NOVEDOSO SISTEMA DE ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS. Wong F, PingAng K, Sethi G. Malasia. 2023 (14)**

El presente artículo de revisión aborda los procedimientos de formulación y diseño de distintos tipos de parches transdérmicos, incluyendo sistemas de

matriz-membrana, medicamentos incorporados en el adhesivo y microreservorios. Además, se examinan las principales metodologías empleadas en la evaluación de estas formas farmacéuticas transdérmicas.

El estudio concluye que si bien la tecnología de parches transdérmicos ofrece una forma eficaz de administrar fármacos, con ventajas como evitar el sistema digestivo y permitir una liberación continua. Se utiliza para tratar afecciones como el dolor crónico, mareos y terapia hormonal, aún existen desafíos como la dosificación incorrecta, baja adhesión, poca penetración del fármaco, irritación cutánea o fallos del parche, lo que requiere más investigación para mejorar su seguridad y eficacia.

- **PELÍCULA, PARCHO O FORMULACIÓN SÓLIDA ADHESIVA QUE COMPRENDE *Sambucus Nigra*, CENTELLA ASIÁTICA Y SAL DE 1-ALQUILPIRIDINIO PARA EL TRATAMIENTO DE TEJIDOS MUCOSOS. 2016. Patente. España (15)**

En esta patente se describe una composición sólida auto-bioadhesiva para aplicación tópica que se adhiere al tejido mucoso oral que contiene una composición de bioactivo herbáceo antiinflamatorio apropiado de *Sambucus nigra*, centella asiática y *Echinacea purpurea*, además contiene tensioactivo de amonio cuaternario que actúa como antimicrobiano. También un polímero para revestir el tejido y fijar dichos extractos.

Respecto al extracto, está a base de varias composiciones. *Sambucus nigra* representa 50 a 90% en peso del extracto de planta en la película y centella asiática de 1 a menos de 50%. Además, se incluyen extractos de otras plantas en porcentajes bajos tales como *Allium sativum*, *Caléndula officinalis*, *Camelia sinensis*, *Commiphora molmol*, *Echinacea purpurea*, *Gaultheria procumbens*, *Hypericum perforatum*, *Krameria triandra*, *Ligusticum porteri*, *Matricaria recutita*, *Melissa officinalis*, *Salix alba*, *Thymus vulgaris*, *Uncaria tomentosa*, *Usnea barbata* y *Vaccinium myrtillus*.

La extracción se llevó a cabo mediante técnicas en frío con disolventes como aceite de oliva, y etanol al 70%. En ciertos casos se necesitó extracciones con más de un disolvente y a distintas temperaturas.

También se describe que el bioactivo herbáceo puede ser uno o más flavonoides, iso flavonoides, tocoferoles, polifenoles, o agentes similares que se encuentran en los extractos. Mencionan flavonoides como rutina, quercitrina, isoquercitrina, diosmina, astragalina, robinina, camferitrina; flavoans como luteolin, pectolinarina, galuteolina, acaciina, hesperidina.

Respecto al agente antimicrobiano pueden ser compuestos de amonio cuaternario que son tensioactivos como sales de 1 alquil piridinio que estuvo presente en 0.01 a 2% en peso de la película, clorhexidina, sales de zinc, sales de fluoruro.

Respecto al polímero o plastificante, comprende un 10 a 45% en peso de la película. Algunos contienen un resto de ácido poliacrílico reticulado como el Carbopol, sales de carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, ácido hialurónico, goma de alginato, quitosano, pectina, polietileno o polipropileno.

Además, se incluyen plastificantes como glicerol, propilenglicol, sorbitol, ester de ácido graso; mejoradores de penetración como ester de ácidos grasos, éter de alcohol graso, monolaurato de sorbatán, metacrilato de estearilo.

2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES

- **ACTUALIZACIÓN DE LOS PROCESOS DE ABSORCIÓN PERCUTÁNEA DE LOS DISPOSITIVOS MÉDICOS TRANSDÉRMICOS PARA LA ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS. Mercado G. Universidad Católica de Santa María. Arequipa. 2024 (16)**

En este estudio, el objetivo fue realizar un análisis documental sobre los procesos de absorción cutánea en dispositivos transdérmicos utilizados para la administración de fármacos. Con ese fin, se revisó exhaustivamente varias

fuentes primarias de bibliografía (como Springer Link y PubMed) y secundarias (libros), seleccionando finalmente 50 documentos relevantes que respondían al objetivo de investigación.

Se identificó al **estrato córneo** como la principal barrera en la absorción cutánea, siendo las vías **intercelular** y **apendicular** las más utilizadas por estos dispositivos. Además, se analizaron factores como las características del principio activo (potencia, tamaño molecular y lipofilia) y las estrategias para superar las barreras cutáneas.

Entre los dispositivos revisados, las **microagujas** destacaron por su desarrollo, eficacia y facilidad de uso, sin requerir equipos adicionales, a diferencia de técnicas como la iontoforesis. Se concluye que, aunque hay avances importantes, el campo aún requiere más desarrollo en eficacia y seguridad.

- **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN RATAS ALBINAS CEPA HOLTZMAN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Kalanchoe daigremontiana* (Aranto) Córdova P. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 2022 (17)**

La investigación tuvo como objetivo evaluar in vivo el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de hojas de *Kalanchoe daigremontiana* “Aranto”. Se preparó el extracto hidroalcohólico por medio de una maceración hidroalcohólica, luego se llevaron a cabo ensayos de solubilidad con solventes de distintas polaridades. Se identificaron metabolitos secundarios mediante una marcha fitoquímica. El efecto antiinflamatorio se evaluó por el método de edema de pata inducido por carragenina, utilizando 30 ratas albinas machos cepa Holtzman con un peso comprendido entre 200 a 250 g y distribuidos aleatoriamente en 6 grupos de 5 ratas; un grupo control negativo con suero fisiológico, tres grupos que recibieron 100, 250 y 500 mg/Kg del extracto y 20 mg/Kg de diclofenaco al grupo patrón. Se examinó la toxicidad aguda conforme a la OECD. El extracto hidroalcohólico es soluble en agua destilada y metanol, poco soluble en cloroformo, éter etílico, n-hexano e insoluble en éter de petróleo.

La marcha fitoquímica mostró la predominancia de alcaloides, flavonoides, aminoácidos, fenoles, taninos, triterpenos y esteroides. La dosis de 500 mg/Kg del extracto hidroalcohólico de *Kalanchoe daigremontiana* presentó mayor efecto antiinflamatorio, aunque su efecto fue ligeramente menor al fármaco de referencia. En la prueba de toxicidad aguda a dosis única de 2000 mg/Kg no se registraron muertes. Se demostró que el extracto hidroalcohólico de *K. daigremontiana* presenta efecto antiinflamatorio sin efectos tóxicos en el modelo utilizado.

- **EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE UN GEL FORMULADO A BASE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Quararibea cordata* (BONPL.) VISCHER “ZAPOTE” EN RATONES Y EVALUACIÓN ANALGÉSICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO.** Dieyse S. Villalobos R. Universidad Norbert Wiener. Lima. 2020 (18)

El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar el efecto antiinflamatorio del gel formulado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Quararibea cordata* “Zapote” en ratones y evaluación analgésica del extracto. Para ello, se emplearon 112 ratones albinos de 30 – 40 g de peso corporal de ambos sexos, agrupados en 7 grupos de 8 ratones cada uno: grupo blanco, grupo control, gel al 0.5%, gel al 1%, gel al 2%, dexametasona y diclofenaco al 1% gel. Se usó el método del edema auricular inducido por Xilol al 0.6%.

Se demostró que el gel a base del extracto al 2% mostró una inhibición de la inflamación del 53.8%, seguido del gel a base del extracto al 1% con una inhibición del 49.5% el cual fue similar a la dexametasona y el diclofenaco al 1% con porcentajes de inhibición de 36.3% y 44%.

- **EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Ambrosia arborenses* Mill (Tarco) EN RATAS ALBINAS.** Huamanteca M. Rodriguez M. Universidad interamericana UNID. Lima. 2019 (19)

Los objetivos de esta tesis fueron demostrar el efecto antiinflamatorio del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill en ratas albinas. Para ello emplearon 30 ratas hembra albinas Sprague Dawley de un peso promedio 200g, las agruparon al azar en 5 grupos y se les administró gel base, gel de diclofenaco al 1%, gel al 2%, al 5% y al 10%. Utilizaron el método de edema plantar con inyección de carragenina al 1%. Se midió la inflamación a las 1, 3, 6, 18 y 21 horas. Además, realizaron pruebas de solubilidad y tamizaje fitoquímico al extracto hidroalcohólico, hallando alta solubilidad en etanol, cloroformo y metanol y alta presencia de alcaloides, esteroides triterpenoides, quinonas, flavonoides y taninos.

Los mejores resultados fueron al 5 y 10% con inhibiciones de la inflamación del 91 y 94% respectivamente.

2.1.3. ANTECEDENTES LOCALES

- **ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL GEL TÓPICO FORMULAO A BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Rosmarinus officinalis* L. Romero Y DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD DÉRMICA AGUDA. Kuncho M. UNSAAC. 2018 (20)**

El objetivo de este estudio fue elaborar y evaluar el efecto antiinflamatorio del gel tópico formulado a base del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Rosmarinus oficinalis* mediante el método del edema auricular inducido por el aceite de crotón y determinar la toxicidad dérmica aguda.

Para ello se identificó y cuantificó el compuesto fenólico Ácido rosmarínico en el extracto mediante HPLC a 330nm dando como resultado una presencia del 54% en el extracto etanólico analizado.

Se usaron 3 concentraciones (0.25%, 0.5% y 1%) del extracto, comparado con un fármaco estándar (gel diclofenaco 1%) a una dosis de 10mg/oreja, siendo el

extracto al 1% quien obtuvo mayor inhibición con 86.05%. Seguidamente, se elaboró el gel tópico al 0.25%, 0.5% y 1%, los cuales mostraron resultados aptos en sus respectivos controles de calidad organoléptico, fisicoquímico y microbiológico; para luego comparar el efecto antiinflamatorio del extracto al 1% con el gel tópico a diferentes concentraciones obteniéndose como resultado un porcentaje de inhibición de 86.16% para el extracto, 84.80% el gel al 0.25%, 93.08% el gel 0.5%, 94.12% el gel al 1% y 94.46% el fármaco patrón.

Finalmente, se determinó la toxicidad dérmica aguda por observación durante 14 días concluyendo que el gel tópico al 1% es una sustancia no irritante, además, se realizó estudios histopatológicos que corroboraron la nula toxicidad dérmica.

- **DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO, TOXICIDAD DÉRMICA AGUDA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70 % DE LAS RAÍCES DE *Azorella biloba* (TULLUMA) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN Y ELABORACIÓN DE UN GEL TÓPICO. Huaman J. UNSAAC. Cusco. 2017 (21)**

Los objetivos del presente estudio fueron examinar el efecto antiinflamatorio por vía tópica, así como la toxicidad dérmica aguda del extracto hidroalcohólico al 70 % de las raíces de *Azorella biloba* (Tulluma) en ratones albinos. Así mismo formular un gel elaborado con la concentración que tuviese el mayor efecto antiinflamatorio de las raíces de *Azorella biloba* “Tulluma” y posteriormente comparar el efecto antiinflamatorio del gel y del extracto para así poder observar si existía alguna variación respecto a la actividad farmacológica entre ambos grupos.

Las raíces de *Azorella biloba* (Tulluma) fueron extraídas por maceración en etanol al 70 %. El efecto antiinflamatorio del extracto se analizó manejando el edema auricular incitado por TPA (aceite de crotón), se examinaron dosis progresivas del extracto de 1, 3 y 5mg/oreja (21). La determinación de la

toxicidad aguda se efectuó por vía tópica, con el método del Test de Draize en las concentraciones de 15%, 30% y 60% (21).

Las conclusiones fueron que tanto el extracto hidroalcohólico al 70% de las raíces de *Azorella biloba* (Tulluma) como el gel tópico elaborado al soporte del extracto presentan efecto antiinflamatorio y separación de toxicidad dérmica en animales de experimentación. La dosis a la que presentó mayor efecto antiinflamatorio fue de 15% (3mg/oreja)

- **ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO DE *Acaulimalva engleriana* (ULBRICH) KRAPOVICKAS (ALTEA) FRENTE A *Candida albicans* CAUSANTE DE VULVOVAGINITIS. Huancahuire C. UNSAAC. Cusco. 2004 (22)**

Este estudio se efectuó con el objetivo de establecer la actividad antimicótica de la raíz de *Acaulimalva engleriana* (Altea) frente a cepas de *Candida albicans*, y cultivos positivos de pacientes con diagnóstico de Vulvovaginitis que asistieron a consulta externa de la asistencia de Ginecología del Nosocomio Regional del Cusco, para lo cual se realizó el procesamiento de la planta hasta la obtención de los extractos secos hidroalcohólicos al 70 y 90 % del cual se realizó el control microbiológico obteniéndose un extracto libre de contaminación. Para determinar la actividad antimicótica se usó el método de Hesley o método de discos de papel, procediéndose primero a la estandarización de la curva de crecimiento micótico en cepas ATCC.

El estudio concluyó que el extracto seco hidroalcohólico al 70% posee mayor actividad a una cantidad de 198.9 mg/500uL en relación con el extracto seco hidroalcohólico al 90% tanto en las cepas ATCC como en las cepas de cultivos positivos.

2.3. ESTADO DE LA CUESTIÓN

La medicina tradicional tiene una importancia económica que está creciendo rápidamente. En general, se estima que un 50% de la población de América Latina tiene poco a ningún acceso a productos médicos y que un gran porcentaje de ellos usa plantas medicinales (23).

De otro lado, existen muchos reportes e investigaciones respecto al abuso indiscriminado de los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y las secuelas desfavorables el cual de ella derivan, problema que en la actualidad cobra gran importancia. A raíz de este problema, se vienen realizando a nivel mundial numerosas investigaciones para acarrear este problema como la creación de nuevas presentaciones de AINEs, de modo que estas sean mejor aceptadas por el paciente, menos dolorosas y de menor toxicidad. En nuestro país, las universidades van enfocando el problema al empleo de plantas medicinales con efecto antiinflamatorio, así como, en los últimos años a la incorporación de estas a una forma farmacéutica, persistiendo aún formas clásicas como cremas, geles, linimentos, pomadas, etc.

Referente a la especie *Acaulimalva engleriana*, a la fecha sólo encontramos 2 estudios a nivel regional: el primero data del año 2004 y evalúa la actividad antimicótica *in vitro* de la planta, y el segundo, del año 2016, evalúa su efecto cicatrizante, teniendo resultados favorables en ambos casos para el extracto hidroalcohólico al 70% (24) (22). Con este estudio, nos sumamos a las investigaciones que se vienen realizando en nuestro país, dándole un enfoque regional buscando aportar con nuevos conocimientos de esta planta, la cual, como mencionamos anteriormente, aún no cuenta con estudios del efecto antiinflamatorio que popularmente se le atribuye; así como ofrecer a la población alternativas de tratamiento con la incorporación del extracto en dos formas farmacéuticas: una forma clásica (gel) y una más innovadora en nuestra región y casa de estudios de la cual aún no se cuentan con protocolos establecidos (parche).

2.4. BASES TEÓRICO-CIENTÍFICAS

2.4.1. ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA ESPECIE EN ESTUDIO

2.4.1.1. NOMBRE CIENTÍFICO

Acaulimalva engleriana (Anexo N° 2)

2.4.1.2. TAXONOMÍA

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliidae

Superorden: Asteraceae

Orden: Malvales

Familia: Malvaceae

Género: *Acaulimalva*

Especie: *Acaulimalva engleriana*

2.4.1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE (25)

Planta altoandina herbácea de 5cm cuyas hojas se hallan postradas, se desarrolla en territorios fríos del ande distribuidas entre los 2500 y 5200 m.s.n.m. (Fotografía N° 1) (26)



FOTOGRAFÍA N° 1: *Acaulimalva engleriana*

Calidad: Cálida

Partes usadas: Hojas y Raíz

Composición curativa: Principalmente mucílagos (25)

2.4.1.4. USOS TRADICIONALES DE LA ESPECIE (25)

- Heridas, las hojas reposadas se colocan como emplasto sobre la afección y con el agua se enjuagan.
- Golpes, la raíz molida se hace hervir en licor, para seguidamente frotar el área afectada con este preparado.
- Tos, se reposan las hojas y el mate se toma 3 veces al día.
- Walt'ar, se muele toda la planta y se coloca como emplasto en la cintura de la dama.
- Expulsión de la placenta, la planta se muele y se ubica en modo de emplasto encima del vientre.
- Fiebre, bañarse en las noches con el cocimiento de la planta.
- Afecciones hepáticas, tomar el mate de la raíz en las mañanas.
- Inflamación de las encías, se mastican las raíces.

2.4.2. PIEL

2.4.2.1. CONCEPTO

Es el órgano de mayor tamaño en el cuerpo en términos de área de superficie con alrededor de 2 m² y la primera línea de defensa (27)

2.4.2.2. ESTRUCTURA

La piel está formada por 3 capas, cada una consistente en distintos tipos celulares y con funciones diferentes. Las tres capas son epidermis, dermis e hipodermis (tejidos subcutáneos) (28).

2.4.2.2.1. EPIDERMIS

Es una capa de epitelio escamoso y estratificado de distinto volumen compuesto de muchas capas celulares. Las capas de la epidermis, de dentro afuera, se llaman estrato germinativo basal, estrato granuloso, estrato espinoso (o de Malpighi), estrato lúcido y estrato córneo (29) (Figura N°1)

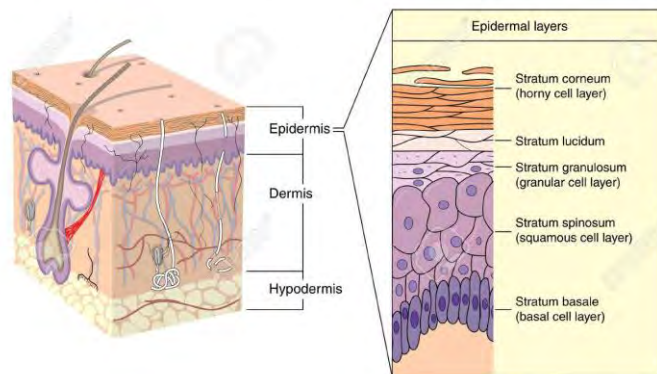


FIGURA N° 1: ESQUEMA DE LAS CAPAS DE LA EPIDERMIS

FUENTE: Lamb Peter. 123RF (Página web) (disponible en https://es.123rf.com/photo_44493562_secci%C3%B3n-transversal-a-trav%C3%A9s-de-la-piel-que-muestra-las-diversas-capas-de-la-epidermis-creado-en-adobe-il.html) (30)

Las células del estrato germinativo, como su nombre indica, se multiplican constantemente a fin de remediar el desgaste de células en la superficie de la epidermis. Con excepción de las células cilíndricas en la capa más profunda, el

estrato basal, las demás hileras de la capa germinativa reciben el nombre de estrato espinoso porque parecen estar conectadas por puentes protoplasmáticos delicados. El estrato granuloso, como lo indica su nombre, posee gránulos que se producen por las variaciones químicas suscitados en el interior de las células a medida que se van acercando a la capa cornea queratinizada superficial. En el estrato lúcido, las células parecen haber perdido sus núcleos y sus límites, y forman una capa traslúcida. En el estrato corneo, que compone la mayor porción de la epidermis en muchas áreas, las células muertas se descaman continuamente (se desprenden diariamente unos 9 gramos de escamas superficiales), y van siendo sustituidas por células procedentes del estrato germinativo. El grosor de las diversas capas constituyentes de la piel, varía en distintas áreas y pueden faltar el estrato lúcido y el granuloso, pero siempre se observan el córneo y el germinativo (29)

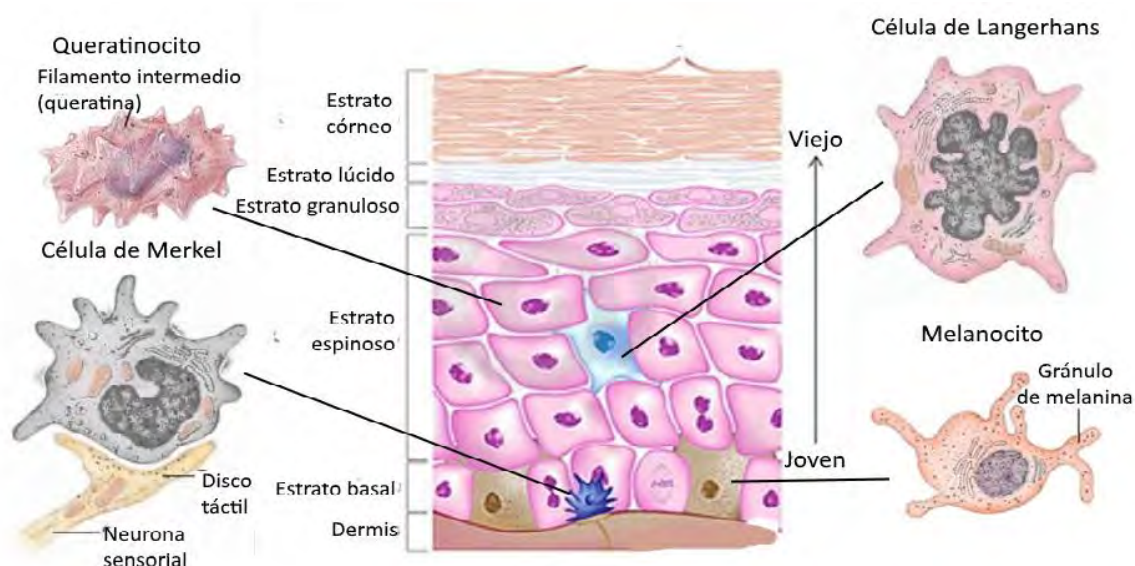


FIGURA N° 2: TIPOS CELULARES DE LA EPIDERMIS

FUENTE: Cordero A, Estructura y funciones de la piel. Woscoff A, Kaminsky A, Marini M, Allevato M. Dermatología en medicina interna. 2nd ed. Buenos Aires: Artes Gráficas El Fe-nix S.R.L. 1-10

2.4.2.2.2. DERMIS

La dermis es una capa de tejido conectivo situada entre la epidermis y el tejido subcutáneo (31). Su composición principalmente es colágeno, fibras elásticas como glicosaminoglicanos (ácido hialurónico, proteoglicanos y glicoproteínas), y otros componentes extracelulares como vasos sanguíneos, linfáticos, nervios sensitivos, folículos pilosebáceos y glándulas sudoríparas. Es un tejido vascularizado que sirve de soporte y alimento a la epidermis, y de protección a la piel y las capas más profundas (27)

2.4.2.2.3. TEJIDO SUBCUTÁNEO

Aunque no siempre se considera parte de la piel, la capa subcutánea o hipodermis, se encuentra debajo de la dermis y conecta la piel con las estructuras corporales subyacentes. Es una capa de tejido conectivo laxo el cual sujeta tejido y fibras elásticas. Actúa tan amortiguador de impactos y aislante térmico. También es una estación de reserva calórica: la grasa puede almacenarse en esta capa, y en caso necesario es degradada para servir como fuente de energía (32). La cantidad de tejido adiposo subcutáneo varía según las distintas partes del cuerpo y solo está ausente en unas pocas regiones (párpados, escroto, pene, pezones y areolas)

El tejido conectivo subcutáneo contiene linfáticos y vasos sanguíneos, las raíces de sudoríparas, los nervios cutáneos y las terminaciones sensitivas (sobre todo los corpúsculos de Pacini) (33)

2.4.2.3. FUNCIONES DE LA PIEL (34)

- Protección contra químicos, radiación ultravioleta, microorganismos.
- Preservación de un balance interno y el medio ambiente.
- Prevención de pérdida de agua, electrolitos y macromoléculas.
- Fuerza, elasticidad y amortiguador
- Regulador de la temperatura
- Síntesis de vitamina D

2.4.3. INFLAMACIÓN

La inflamación es la respuesta del sistema inmunológico de un cuerpo, al daño ocasionado a sus tejidos y células por cualquier agente de índole biológico, químico, físico o mecánico (35)

2.4.3.1. CAUSAS

- Agentes biológicos: gérmenes, parásitos, hongos, virus.
- Agentes físicos: irradiaciones, calor, frío, ultravioletas.
- Agentes químicos: estupefacientes, tóxico.
- Traumatismos y organismos extraños.
- Alteraciones inmunitarias: así por ejemplo las contestaciones de hipersensibilidad (36)

2.4.3.2. CARACTERÍSTICAS DEL PROCESO INFLAMATORIO

Las características del proceso inflamatorio son fundamentales para entender cómo el cuerpo responde ante lesiones, infecciones o irritaciones. Estas características pueden dividirse en dos categorías principales: las características clásicas y los procesos biológicos y celulares involucrados.

2.3.3.3.1. Características clásicas

Son los signos visibles y palpables que se observan durante una inflamación. Se caracteriza por cinco signos clínicos: rubor, calor, dolor, tumor y pérdida de la funcionalidad (37). Estas manifestaciones cardinales son causadas por la acumulación de leucocitos, proteínas plasmáticas y derivados de la sangre hacia sitios de los tejidos extravasculares donde existe una infección o lesión, provocada o no por agentes patógenos.

2.3.3.3.2. Procesos biológicos y celulares involucrados

Además de los signos visibles, el proceso inflamatorio involucra una serie de mecanismos biológicos y celulares esenciales para la defensa del cuerpo:

- **Mediadores químicos**

Son sustancias químicas que activan, modulan y sostienen la respuesta inflamatoria (38), entre los más importantes se encuentran la histamina y serotonina que son aminas vasoactivas liberadas al inicio de la inflamación; los derivados del ácido araquidónico como las prostaglandinas, leucotrienos y lipoxinas; el factor de necrosis tumoral (TNF) que se activa por endotoxinas, productos microbianos y daño físico; la interleucina 1, el óxido nítrico (NO), el factor activador de plaquetas (PAF), entre otros; cuyas acciones se resumen en tabla N°1:

TABLA N° 1: MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN

Mediador químico	Acción
Histamina y serotonina (aminas vasoactivas)	Incremento de la permeabilidad
Bradicinina	Incremento de la permeabilidad y dolor
C3a (producto del complemento, anafilatoxinas)	Incremento de la permeabilidad opsonina
C5a (producto del complemento, anafilatoxinas)	Incremento de la permeabilidad, quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Prostaglandinas (metabolitos del ácido araquidónico)	Vasodilatación, dolor, fiebre, activa a otros mediadores
Leucotrieno B ₄ (metabolito del ácido araquidónico)	Quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Leucotrieno C ₄ , D ₄ , E ₄ (metabolitos del ácido araquidónico)	Incremento de la permeabilidad, broncoconstricción, vasoconstricción
Metabolitos del oxígeno (radicales libres)	Incremento de la permeabilidad, lesión endotelial y tisular
Factor activador de plaquetas (PAF)	Incremento de la permeabilidad, broncoconstricción, cebado de leucocitos
Interleucina-1 (IL-1) y Factor de necrosis tumoral (TNF) (citocinas)	Reacciones de fase aguda, activación endotelial, quimiotaxis
Óxido nítrico	Incremento de la permeabilidad, vasodilatación, citotoxicidad

Fuente: León M. Inflammatory Acute Response. Biochemical and Cellular Considerations (38)

- **Células inmunitarias involucradas**

Las células que intervienen en la inflamación pueden ser de la inmunidad innata como los neutrófilos, macrófagos, mastocitos, células dendríticas a nivel del epitelio (5). Las células epiteliales son las primeras que detectan el daño por sus receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Los linfocitos T y B son los efectores de la inmunidad adquirida (37).

2.4.3.3. FASES DE LA INFLAMACIÓN

2.4.3.3.1. Respuesta vascular

Indistintamente del origen del agente lesivo, el proceso inflamatorio inicia con una vasoconstricción muy breve, seguida casi de forma inmediata de una vasodilatación arteriolar y apertura de esfínteres precapilares lo que provoca un aumento de la permeabilidad capilar y la iniciación del lecho capilar.

Como consecuencia, se produce una congestión vascular, exudación de proteínas y una redistribución celular (39) (36)

2.4.3.3.2. Respuesta leucocitaria inicial

Los neutrófilos y monocitos se adhieren al endotelio y migran hacia el tejido dañado (diapédesis). Una vez en el tejido dañado, son guiados al sitio inflamatorio por un gradiente químico de sustancias (quimiocinas), este proceso se conoce como quimiotaxis (40).

Los leucocitos reconocen y se adhieren a patógenos mediante la opsonización, facilitando así su identificación. Finalmente ocurre la fagocitosis, en la cual los leucocitos (neutrófilos, macrófagos) ingieren y destruyen los patógenos usando enzimas y mecanismos oxidativos (40).

2.4.3.3.3. Respuesta leucocitaria tardía

Los macrófagos presentan antígenos al sistema inmune mediante moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (MHC-II), esto activa a las células T, que producen citocinas e inducen una respuesta inmune más específica, incluyendo la generación de anticuerpos e inmunidad adaptativa (41).

2.4.3.4. TIPOS DE INFLAMACIÓN

2.4.3.4.1. INFLAMACIÓN AGUDA

Es la respuesta inicial y rápida a las infecciones y al daño tisular. Por lo general, se desarrolla en cuestión de minutos u horas y es de corta duración (42). Sus principales características son la exudación de proteínas líquidas y plasmáticas (edema) y la emigración de leucocitos, predominantemente neutrófilos (también llamados leucocitos polimorfonucleares). (42)

La inflamación aguda tiene tres componentes principales: dilatación de los vasos que conduce a un aumento del flujo sanguíneo, aumento de la permeabilidad vascular, y la emigración de los leucocitos desde el microcirculación, su acumulación en el foco de la lesión y su activación para eliminar el agente agresor (42)

Cuando la inflamación aguda logra el objetivo deseado de eliminar a los agresores, la reacción disminuye, pero si la respuesta no logra eliminar el estímulo, la reacción puede progresar a una fase prolongada que se llama inflamación crónica (43)

2.4.3.4.2. INFLAMACIÓN CRÓNICA

Es una inflamación de duración prolongada (meses a años) que ocurre cuando la respuesta inflamatoria aguda no elimina el agente causante, después de episodios repetidos de inflamación aguda, o por activadores bioquímicos que causan estrés oxidativo, o alguna enfermedad autoinmune (43) (44).

La inflamación crónica se caracteriza por el reclutamiento continuo de leucocitos mononucleares circulantes, incluidos monocitos y linfocitos T. Una vez que los monocitos salen de la sangre, se diferencian en macrófagos. Esta acumulación de leucocitos se acompaña de lesión tisular debido a la respuesta inflamatoria prolongada. Las respuestas inflamatorias crónicas persisten durante períodos de tiempo mucho más largos que van desde meses hasta años y toda la vida en el caso de algunas enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis

reumatoidea, osteoporosis, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico, enfermedad inflamatoria intestinal (45)

2.4.4. FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

Los medicamentos antiinflamatorios pueden dividirse entre no narcóticos y narcóticos derivados del opio. Entre los no narcóticos encontramos los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) derivados del ácido propiónico (diclofenaco, metamizol, ketorolaco, naproxeno, ibuprofeno), los oxicanos (dexketoprofeno, meloxicam, piroxicam), los salicilatos (ácido acetilsalicílico) (46)

2.4.4.1. DICLOFENACO

2.4.4.1.1. Introducción

El diclofenaco es un derivado fenilacético, cuya fórmula química es: Ácido 2-(2-[(2,6-diclorofenyl) amino] fenil) acético (figura N° 3). Actúa como analgésico y antiinflamatorio, inhibiendo la enzima ciclooxigenasa.

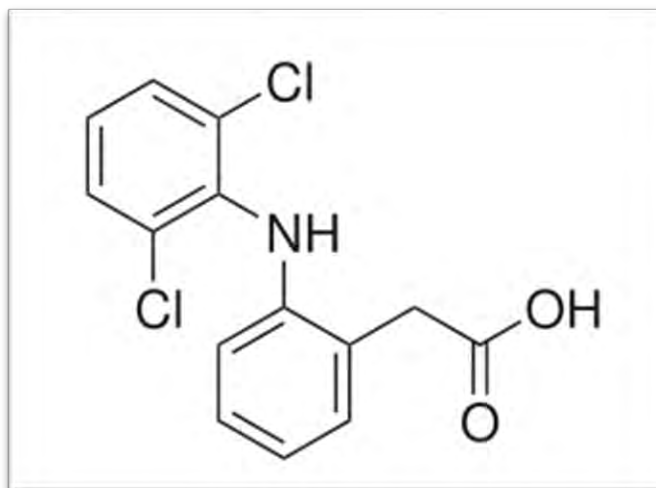


FIGURA N° 3: ESTRUCTURA QUÍMICA DEL DICLOFENACO

Fuente: Química alcano. <http://quimicaalkano.com/product/diclofenac-sodico/>

2.4.4.1.2. Farmacocinética

Se absorbe bien por vía oral, intramuscular y a través de la piel. Aunque el diclofenaco oral soporta un metabolismo de primer paso, por lo cual aproximadamente el 50% del fármaco llega a la circulación sistémica tal cual (47).

A concentraciones terapéuticas, se une en un 99% a proteínas plasmáticas. Se elimina mayormente por orina (60%) y bilis (35%) (48).

2.4.4.1.3. Farmacodinamia

El mecanismo de acción no se percibe totalmente, pero parece implicar la inhibición de la vía de la cicloxigenasa (COX-1 y COX-2) reduciendo prostaglandinas. También reduce leucotrienos por inhibición de la lipooxigenasa y la enzima fosfolipasa A2 (48) (47).

2.4.4.1.4. Indicaciones Terapéuticas

Tratamiento del dolor ligero a moderado e inflamación como artritis, osteoartritis, espondilitis anquilosante, dismenorrea, gota, cólicos renales. Lesiones musculoesqueléticas como luxaciones, dislocaciones, tendinitis y bursitis. Alivio de la inflamación y dolor postoperatorio y trauma. Coadyuvante en el tratamiento de infecciones inflamatorias fuertes del oído, garganta o nariz, por ejemplo, amigdalitis / faringitis, así como, otitis (47) (48).

2.4.4.1.5. Contraindicaciones

Alergia a AINEs, pacientes con asma, pólipos nasales, urticaria o reacciones alérgicas post AINEs. Durante el embarazo y durante la cirugía de injerto de desviación de arteria coronaria (CABG). Pacientes con úlceras gástricas o intestinales, hipertensión severa, citopenias. Asimismo, en pacientes con enfermedad hepática activa, insuficiencia renal grave y porfiria (49)

2.4.4.1.6. Reacciones Adversas

Son comunes las reacciones gastrointestinales como náuseas, dolor abdominal, diarrea, perforación/sangrado, úlceras gastrointestinales. Otros como dolor de cabeza, mareos, fatiga, rash, edema, alteración renal/ hepática. (47) (48).

Rara vez ocurren otras reacciones adversas, que incluyen reacciones alérgicas, cambios en el apetito, arritmia, hipotensión, infarto de miocardio, palpitaciones, vasculitis (48).

2.4.4.1.7. Interacciones (47) (48)

Ácido acetilsalicílico y otros AINEs: disminuye su unión a proteínas y un aumento de las reacciones adversas.

Aumenta la toxicidad del metotrexato y la nefrotoxicidad de la ciclosporina.

Reduce la eficacia de diuréticos y antihipertensivos.

Aumenta los niveles plásmaticos de litio, aumenta el riesgo de sangrado en pacientes que reciben anticoagulantes

Sucralfato y fármacos reguladores de lípidos reducen la concentración plasmática de diclofenaco.

2.4.5. GELES

Los geles son preparaciones semisólidas, constituidas por macromoléculas dispersas en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite, que forman así una red que atrapa al líquido y le restringe el movimiento. (50)

La característica común de los geles es la presencia de un tipo de estructura continua que les proporciona las propiedades de los semisólidos (51)

2.4.5.1. VENTAJAS DE LOS HIDROGELES (52)

Estos excipientes son una de las formas semisólidas más utilizadas porque presentan una serie de ventajas:

- Son muy bien tolerados, ya que en su mayor parte están constituidos por agua, que es inocua e inerte.
- Son muy refrescantes y ligeros, porque favorecen la pérdida del agua a través de la piel y una vez evaporada aquella dejan muy poco residuo.
- Poseen una buena extensibilidad, formando películas continuas sobre la piel, lo que facilita la absorción de los fármacos.
- No contienen grasa por lo que no manchan y en caso de que impregnen alguna prenda, se lavan fácilmente con agua.
- Suelen ser transparentes por lo que presentan un aspecto agradable que favorece la adherencia a los tratamientos.
- Su consistencia puede adaptarse modificando la concentración del polímero gelificante, por lo que pueden obtenerse preparados muy fluidos (p.e. para salivas y lágrimas artificiales) semifluidos (serum) o incluso de gran consistencia. Algunos geles son tixotrópicos, es decir al agitarlos disminuye su viscosidad, lo que facilita su aplicación, y al dejarlos en reposo recuperan su estructura.
- Aunque son especialmente adecuados para vehiculizar principios activos hidrosolubles, también pueden incorporarse otras sustancias, incluso grasas, formando crema-geles o activos liposomados.
- En general son muy económicos ya que el agua es el componente mayoritario y puede llegar a constituir hasta el 99% del excipiente.
- Muchos de ellos pueden utilizarse tanto sobre la piel como en mucosas y algunos se utilizan incluso por vía interna para la lubricación de sondas o catéteres.

2.4.6. PERMEACIÓN PERCUTÁNEA

La absorción percutánea es un proceso por el cual una droga se moviliza a través de la capa córnea, epidermis y dermis de forma secuencial gracias a un gradiente de concentración hasta alcanzar el torrente circulatorio (53)

2.4.6.1. ETAPAS DE LA ABSORCIÓN PERCUTÁNEA

Se produce en tres etapas: liberación del principio activo desde el vehículo, difusión y permeabilización en la capa córnea, y paso a través de la dermis hasta llegar a la microcirculación sistémica.

El proceso inicia con la disolución del fármaco para poder difundir hasta la membrana dentro del parche transdérmico, la molécula se distribuye dentro de la capa adhesiva. Las moléculas difunden desde el vehículo al estrato córneo, distribuyéndose a través del mismo hasta llegar a la epidermis. Dentro de esta capa las enzimas juegan un papel importante ya que pueden metabolizar el fármaco e interactuar con el receptor. Una vez que pasa a la dermis, algunas zonas de depósito pueden intervenir a medida que el fármaco se mueve hacia un capilar, distribuyéndose en la pared hacia la sangre para llegar a la circulación sistémica (54)

En este proceso se consideran principalmente dos tipos de rutas: macrovías y microvías. Las macrovías implican el paso del fármaco a través de glándulas sudoríparas y folículos pilosos. Por otro lado, las microvías comprenden rutas más pequeñas como la vía intercelular, donde la sustancia se desplaza entre los corneocitos del estrato córneo mediante los lípidos intercelulares, las moléculas lipofílicas se ven favorecidas. En la vía transcelular, la sustancia cruza repetidamente las bicapas lipídicas y los corneocitos permitiendo el paso tanto de moléculas hidrofílicas como lipofílicas, siendo la más empleada por sustancias polares (55).

Para que un fármaco pueda ser administrado mediante un sistema transdérmico, logrando una dosis clínica adecuada y alcanzando la circulación

sistémica con efecto terapéutico, usualmente deben ser no iónicos, de bajo peso molecular, denben contar con buena solubilidad en agua y lípidos, así como tener bajo punto de fusión (56). Además es necesario que cumpla ciertos criterios específicos tales como un punto de fusión menor a 250°C, peso molecular menor a 500 Da, coeficiente de reparto (log P) entre 1 y 4, no toxicidad dérmica, solubilidad en agua 0.5 a 1mg/ml (57).

La cantidad de moléculas que alcanza la circulación sistémica también depende de varios factores como el estado de la piel, la zona del cuerpo donde se aplica, así como la edad, raza, el nivel de hidratación del tejido y el flujo sanguíneo (58) (Tabla N° 2).

3. TABLA N° 2: CAPACIDAD DE PENETRACIÓN TRANSDÉRMICA

Grado de Penetración	Características
Pobre	Polímeros de alto peso molecular y macromoléculas (proteínas o polisacáridos)
Pobre	Electrolitos solubles en agua (sodio, cloro)
Pobre	Sustancias solubles en agua (glucosa, urea)
Buena	Sustancias lipo e hidrosolubles
Excelente	Sustancias liposolubles, no polares, bajo peso molecular

4. FUENTE: *Skin permeability: dermatologic aspects of transdermal drug delivery* (53)

2.4.7. PROMOTORES DE LA ABSORCIÓN

Los promotores de absorción son compuestos que actúan sobre los elementos de la barrera cutánea, específicamente el estrato córneo, facilitando el paso del fármaco a través de la piel. Gracias a su uso, es posible administrar una mayor variedad de medicamentos por vía transdérmica.

Para ser utilizados, estos promotores deben cumplir con ciertos requisitos:

- No deben tener actividad farmacológica ni reaccionar con el medicamento.
- Deben ser no tóxicos, hipoalergénicos y no irritantes.
- Su efecto debe ser rápido y predecible.

- Tras retirarlos de la piel, esta debe recuperar su permeabilidad normal en un periodo máximo de 6 horas.
- Deben ser bien tolerados por el paciente.

TABLA N° 3: CLASIFICACIÓN DE PROMOTORES

<u>Tipos</u>	<u>Ejemplos</u>
<i>Tensioactivos</i>	Monopalmitato de sorbitán, trioleato de sorbitán, bromuro de cetiltrimetilamonio.
<i>Ácidos grasos/ésteres</i>	Ácidos alcanoicos, ácido oléico, láurico, cáprico, miristato de isopropilo.
<i>Terpenos</i>	Nerolidol, farnesol, carvona, mentona.
<i>Disolventes</i>	Dimetilsulfoxido (DMSO), etanol, octanol, hexanol.

Fuente: Revista de farmacia y desarrollo de medicamentos. Pang Hang

2.4.8. SISTEMAS TERAPÉUTICOS TRANSDÉRMICOS (STT)

Son formas farmacéuticas que al aplicarse sobre la piel permiten una liberación continua y controlada del medicamento durante un tiempo específico. Estos sistemas al mantener concentraciones estables del fármaco en sangre, son una opción alternativa que ofrecen ciertos beneficios frente a otras vías como la oral o parenteral (59).

Entre este tipo de sistema se destacan los parches transdérmicos, microagujas, iontoforesis, sonoforesis, profármacos y sistemas de nanopartículas poliméricas (56).

2.4.8.1. PARCHES TRANSDÉRMICOS

2.4.8.1.1. ESTRUCTURA

Un parche transdérmico es un sistema multicapa estable formado por 3 partes primordiales: adhesivo, principio activo, potenciadores (60)

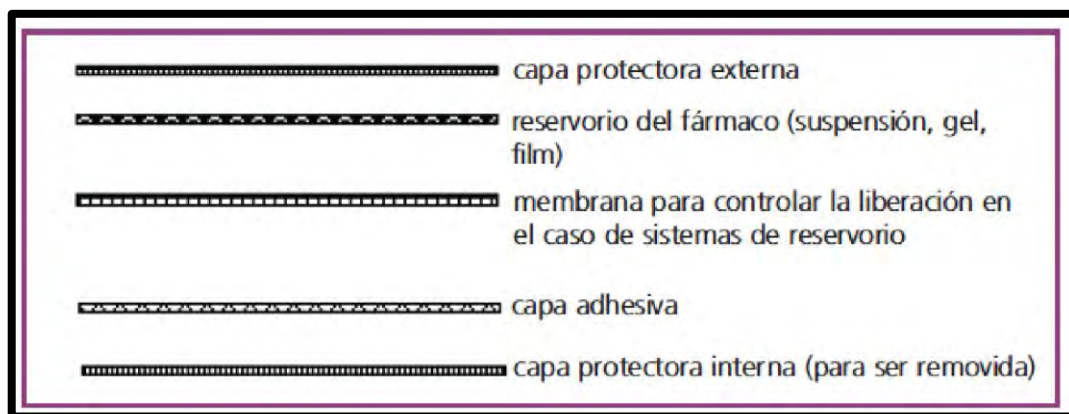


FIGURA N° 4: ESQUEMA DE UN PARCHES TRANSDÉRMICO

FUENTE: Gary W. Cleary, PhD, MBA, PharmD *Transdermal & Transdermal-like Delivery System Opportunities: Today & the Future* (On Line)
<http://www.drugdeliverytech.com/cgi-bin/articles.cgi?idArticle=151>

Se reconocen varios sistemas de diseño:

- **Sistemas de reservorio o Sistema controlado de permeación con membrana:** el fármaco está disperso en un depósito o reservorio y se libera por medio de una membrana de difusión, que controla la liberación del fármaco (55) (figura N° 5)

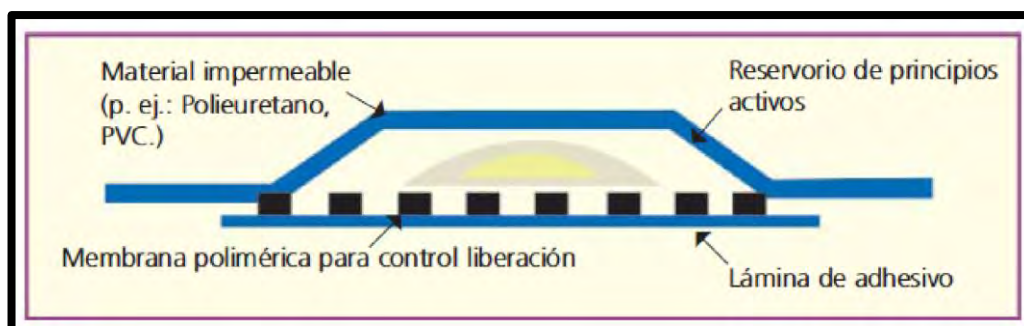


FIGURA N° 5: ESQUEMA DE UN SISTEMA DE RESERVORIO

FUENTE: Gary W. Cleary, PhD, MBA, PharmD *Transdermal & Transdermal-like Delivery System Opportunities: Today & the Future* (On Line)
<http://www.drugdeliverytech.com/cgi-bin/articles.cgi?idArticle=151>.

La capa de polímero asegura un buen contacto del parche con la piel.

- **Sistemas matriciales:** No existe reservorio ni membrana de control. El fármaco se dispersa uniformemente en una matriz impermeable (figura N° 7). La matriz polimérica es de liberación controlada según los excipientes involucrados en la formulación (55).

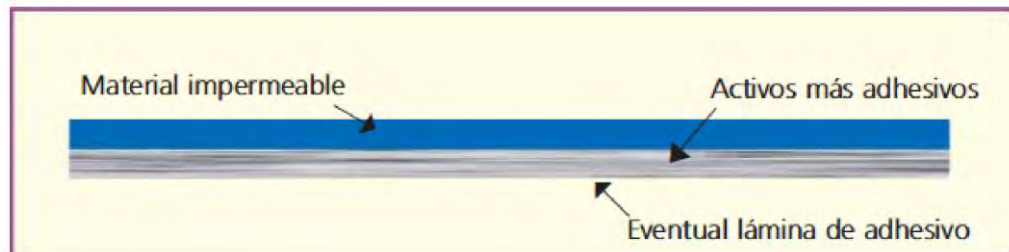


FIGURA N° 6: ESQUEMA DE SISTEMA MATRICIAL

FUENTE: Gary W. Cleary, PhD, MBA, PharmD *Transdermal & Transdermal-like Delivery System Opportunities: Today & the Future (On Line)*
<http://www.drugdeliverytech.com/cgi-bin/articles.cgi?idArticle=151>.

- **Sistema de difusión controlada vía matriz:** El ingrediente activo se dispersa en una matriz de polímero y luego se coloca debajo de un disco de material oclusivo e impermeable. La liberación de ingredientes activos está regularizada por la matriz polimérica (figura N° 8).

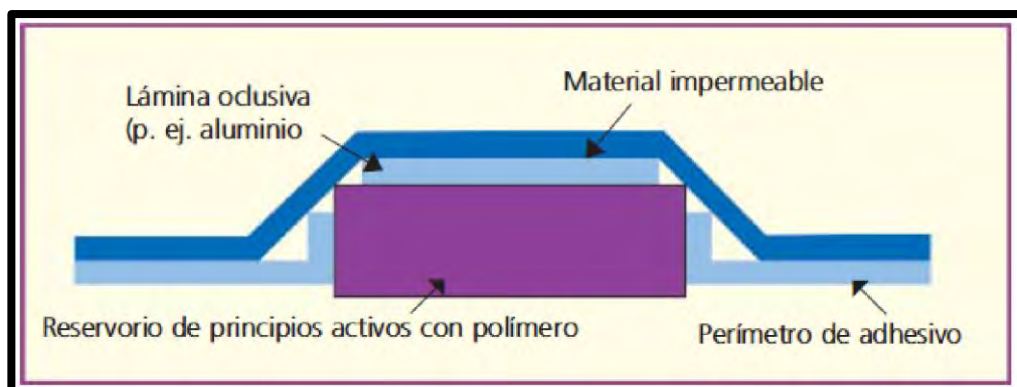


FIGURA N° 7: ESQUEMA DE SISTEMA DE LIBERACIÓN CONTROLADA VÍA MATRIZ

FUENTE: Gary W. Cleary, PhD, MBA, PharmD *Transdermal & Transdermal-like Delivery System Opportunities: Today & the Future (On Line)*
<http://www.drugdeliverytech.com/cgi-bin/articles.cgi?idArticle=151>.

- **Sistema de difusión controlada mediante micro reservorios:** El fármaco se suspende en una solución soluble en agua y luego se homogeneiza en el polímero lipofílico que forma las microesferas. Apto para papel absorbente aislado. La liberación de ingredientes activos está regularizada por los compartimentos de líquido y polímero (55) (figura N°9).

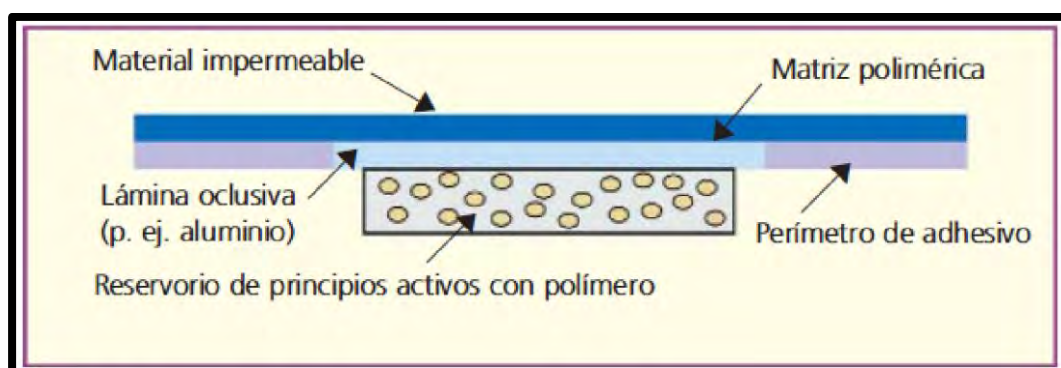


FIGURA N° 8: ESQUEMA DE SISTEMA DE DIFUSIÓN CONTROLADA MEDIANTE MICRO RESERVORIO

FUENTE: Gary W. Cleary, PhD, MBA, PharmD *Transdermal & Transdermal-like Delivery System Opportunities: Today & the Future (On Line)*
<http://www.drugdeliverytech.com/cgi-bin/articles.cgi?idArticle=151>

2.4.8.1.2. EFECTOS ADVERSOS

La gran generalidad de los pacientes (97%) informaron cierto tipo de resistencia cutánea en el lugar de aplicación del parche (59) (Tabla N° 4).

TABLA N° 4: REACCIONES ADVERSAS RELACIONADAS AL USO DE STT

Tipo de Reacción			Fármaco
Irritación Clásica			Etanol, glicerina
Dermatitis contacto	irritativa	por	Nitroglicerina
Dermatitis contacto	alérgica	por	Clonidina, nitroglicerina, escopolamina, testosterona, estradiol, nicotina y fentanilo, adhesivos; hidroxipropil celulosa, etanol, mentol y anestésicos

Vasodilatación con eritema	Nicotina
Reacción alérgica generalizada	Nicotina, nitroglicerina
Quemadura	Plástico aluminizado

FUENTE: Gary W. Cleary, PhD, MBA, PharmD *Transdermal & Transdermal-like Delivery System Opportunities: Today & the Future (On Line)*
<http://www.drugdeliverytech.com/cgi-bin/articles.cgi?idArticle=151>. (58)

La respuesta de estímulo clásica más común es clara y se limita al campo de aplicación del parche (60). Están particularmente relacionados con el empleo de métodos de almacenamiento de agua y desaparecen una vez que se retira el parche. Los mecanismos involucrados en este tipo de reacción son el etanol y el glicerol. La acumulación de sudor favorece este efecto, la acumulación de sudor se debe al efecto oclusivo del parche que bloquea los poros, y la alta temperatura local también favorece la reproducción de microorganismos. El mismo efecto de eliminación del parche aumenta la irritación. Reduce la sudoración agregando hidrogel absorbente de agua (60).

El bloqueo, la irritación y la distribución repetida del parche en la misma zona de la piel o la estancia dilatada son beneficiosos para la sensibilización y el progreso de dermatitis alérgica de relación causada por fármacos activos, excipientes, adherentes, entre otros.

2.5. CONSIDERACIONES ÉTICAS EN EL MANEJO DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

2.5.1. JUSTIFICACIÓN DE LA NECESIDAD DE USAR ANIMALES

2.5.1.1. Del uso de ratones albinos

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antiinflamatoria, generalmente se ensaya a través de la inoculación en el nódulo plantar u oreja de la rata o ratón (61) de una sustancia pro- inflamatoria (carragenina, formaldehído, ácido acético, aceite de crotón, etc), a continuación, se administra

el extracto a investigar y posteriormente se hace la medición por pletismografía digital, balanza analítica, micrómetro, vernier, etc (61).

Existen algunos ensayos, que a fin de eliminar mecanismos que involucren el eje hipofiso-adrenal hacen uso de ratas adrenalectomizadas. Otros ensayos, inducen una artritis por inyección intradérmica en una pata de rata o ratón con 0.025 mL de gérmenes muertos de *Mycobacterium tuberculosis* en parafina líquida (61).

Para la realización de este proyecto de investigación decidimos utilizar el método de edema agudo en oreja de ratón inducido por aceite de crotón (12-O-tetradecanoil forbol-13 acetato (TPA)) debido a que representa, un método con menor exposición al dolor y sufrimiento de los animales de investigación y por la amplia información sobre su protocolo validado por numerosos estudios.

2.5.1.2. Del uso de cobayos albinos

Utilizamos el método de irritación cutánea aguda (Test de Draize para piel) porque es un método aprobado y validado por la Norma Española ISO 10993-23 (62), y que además cumple con las buenas prácticas de Laboratorio. Este método se realiza de forma habitual con una sola dosis (exposición única) lo que nos permite usar el menor número de animales posible, además, su evaluación se realiza a las 1, 24, 48 y 72 horas (62), a diferencia de otros métodos que requieren mayor exposición de la sustancia en la piel de los animales de hasta 90 días.

2.5.2. IDONEIDAD DE LAS ESPECIES SELECCIONADAS, REUTILIZACIÓN DE ANIMALES

2.5.2.1. Especie, raza, edad y sexo

Ratones albinos especie *Mus musculus* de 2 a 3 meses de edad con un promedio por peso corporal de 25 – 30 g proporcionados por el Instituto Nacional de Salud (INS) – Lima. Son los animales recomendados por el protocolo del método de edema agudo en oreja de ratón inducido por aceite de crotón.

09 cobayos albinos especie *Cavia porcellus* de 1-2 meses de edad con un peso promedio de 500 g, ambos proporcionados por el Instituto Nacional de Salud (INS) – Lima. Son los animales recomendados por el protocolo del método de determinación de irritación primaria (SPI) e índice de irritación primaria (PII) (Método de Draize).

2.5.2.2. Procedencia de los animales

Instituto Nacional de Salud Lima

2.5.2.3. Previsión por parte del investigador del proceso de adaptación de los animales a las instalaciones y a los tratamientos experimentales (tiempo y condiciones)

Los animales fueron traídos días previos a su utilización y fueron aclimatados 1 semana a temperatura promedio de 22° C, con alimentación y agua a demanda propia.

2.5.2.4. Estado sanitario de los animales a su llegada

Los animales fueron transportados por vía aérea para reducir el tiempo de traslado y asegurar que lleguen en óptimas condiciones.

Los animales fueron pesados antes y durante las evaluaciones para establecer su aumento de peso, indicador de su buen estado de salud.

2.5.3. MACRO Y MICROAMBIENTE DE RATONES ALBINOS

2.5.3.1. MICROAMBIENTE

El microambiente se refiere a las condiciones inmediatas del entorno donde vive un animal dentro del bioterio, es decir, dentro de su jaula o lugar de alojamiento. Incluye factores, tipo de sustrato, enriquecimiento ambiental y características de la jaula (63).

Las jaulas deben estar fabricadas con materiales que permitan la observación del animal, pero que, al mismo tiempo, reduzcan la exposición a la luz intensa.

Se recomienda el uso de sustratos absorbentes, libres de polvo, no tóxicos y que permitan comportamientos naturales como escarbar o anidar, siendo comunes la viruta de madera tratada o la celulosa comprimida. Un buen sustrato también contribuye al control del olor y la humedad dentro de la jaula. Por último, el enriquecimiento ambiental debe considerarse parte integral del microambiente. Incluir materiales de anidación, estructuras que sirvan de refugio o escondite, así como objetos que estimulen la exploración y el comportamiento social, permite reducir los niveles de estrés y mejorar el bienestar general. Este enriquecimiento es especialmente importante en ratones albinos, cuya sensibilidad sensorial los hace más susceptibles a factores estresantes del entorno inmediato (64).

2.5.3.2. MACROAMBIENTE

Es el entorno general que rodea al alojamiento del animal, tales como niveles de ruido ambiental, vibraciones del entorno, ubicación de las jaulas, contaminación cruzada biológica, olfativa, química; ventilación del recinto (65).

Se recomienda ciclos de luz/oscuridad controlados, generalmente de 12 horas, con intensidades lumínicas no superiores a 60 lux dentro de las jaulas. Es crucial evitar la exposición directa a fuentes de luz intensa, como tubos fluorescentes sin filtro, para prevenir daño retiniano, estrés visual y alteraciones en el comportamiento circadiano (64). Las condiciones óptimas para el alojamiento de ratones albinos en bioterios se encuentran entre los 18 y 26 °C de temperatura y una humedad relativa del 30 al 70 % (65). En cuanto a la ventilación, es indispensable garantizar una renovación constante del aire —habitualmente entre 10 y 15 recambios por hora— para mantener bajos los niveles de amoníaco, dióxido de carbono y partículas en suspensión (64).

2.5.4. REDUCCIÓN DE SUFRIMIENTO INNECESARIO

Para trabajar con animales de laboratorio, los investigadores deben tener como primera condición, respetar la vida del animal que esté bajo su responsabilidad,

así como minimizar el dolor, sufrimiento y/o angustia al que muy probablemente serán expuestos en los procedimientos de experimentación (66),

Así también, estamos moralmente obligados a brindarles a estos animales de investigación respeto, pues son seres vivos que por su sensibilidad experimentaron sufrimiento y terminarán perdiendo la vida; y afecto y gratitud, al constituirse como uno más de nuestros colaboradores por la importante ayuda que nos brindaron (67).

Es por ello que seguimos un principio propuesto por William Russell (zoólogo y psicólogo) y Rex Burch (microbiólogo), quienes en 1959 plantearon el uso de las 3 R en la experimentación humanizada para con los animales que son Reducir, Reemplazar y Refinar (66).

2.5.5. FINALIZACIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE EXPERIMENTACIÓN

Los ratones fueron sacrificados 4 y 8 horas después de inocular la sustancia proinflamatoria aplicando una dislocación cervical y a continuación se cortaron trozos de ambas orejas.

Los cobayos permanecieron con vida tras la culminación de la investigación.

2.6. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- **Inflamación:** Este es el nombre de la reacción local del organismo ante el ataque de diversas etiologías que ocurren en un lugar determinado, con el objetivo de eliminar y reparar los tejidos dañados. (5)
- **Antiinflamatorio:** Perteneciente a sustancias o procedimientos que previenen o reducen la inflamación. Fármaco. (6)
- **Excipiente:** Cualquier componente, distinto del principio o principios activos presentes en un medicamento o utilizados en su fabricación. (56)
- **Principio Activo:** Una sustancia farmacológicamente activa extraída de organismos vivos, después de la purificación o modificación química, se denomina fármaco. (56)
- **Metabolitos Secundarios:** Combinados sintéticos por las plantas, en los que realizan funciones no esenciales, por lo que su ausencia no tiene un efecto fatal en las plantas porque no interfieren con el metabolismo principal de las plantas. (67)
- **Toxicidad:** El grado de toxicidad de la sustancia. Enfermedades causadas por la exposición a toxinas o sustancias tóxicas que no causarán una pequeña cantidad de efectos adversos. (76)
- **Humectante:** Sustancia con propiedades higroscópicas que propicia la retención de agua en la piel. (56)
- **Diluyente:** Un diluyente es un agente de dilución. Son usadas como relleno dan tamaño y forma apropiado a los comprimidos. (56)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. MATERIAL BOTÁNICO

Se emplearon raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) las cuales fueron recolectadas en la comunidad de Araycalla, distrito de Yaurisque, provincia de Paruro a una altura de 3 900 m.s.n.m.

3.1.2. MATERIAL BIOLÓGICO

Se emplearon 55 ratones albinos machos especie *Mus musculus* de 2 a 3 meses de edad con un promedio de peso corporal de 25 – 30 g y 09 cobayos albinos especie *Cavia porcellus* de 1 a 2 meses de edad con un peso promedio de 500 g proporcionados por el Instituto Nacional de Salud (INS) - Lima (Anexo 3 y 4).

3.1.3. MATERIALES DE CAMPO

- Bolsas de papel Kraft
- Cuaderno de campo
- Cámara fotográfica
- Lapiceros
- Plumón indeleble
- Etiquetas de campo
- Pico
- Equipo GPS

3.1.4. MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO

3.1.4.1. MATERIALES

- Baguetas

- Embudos
- Frasco ámbar
- Frascos pequeños de vidrio
- Matraces de 50, 100 mL
- Pipetas de 1, 2, 5, 10 mL
- Probeta 100mL
- Tubos de ensayo 5mL, 10mL
- Gradilla
- Papel filtro
- Papel indicador
- Termómetro
- Vasos de precipitado de 25, 50, 100, 250 mL
- Goteros
- Cuchillo
- Soporte universal
- Placas petri 5, 10 cm de diámetro
- Papel aluminio

3.1.4.2. EQUIPOS

- Molino de granos
- Rotavapor BOECO
- Estufa BINDER
- Balanza analítica OHAUS
- Balanza analítica EXPLORER PRO
- Micropipeta automática SCILOGEX.
- Baño María MEMMERT
- Disolutor ELECTROLAB
- Espectrofotómetro PURKINJE GENERAL INSTRUMENT

3.1.5. REACTIVOS

3.1.5.1. REACTIVOS PARA ANÁLISIS FITOQUÍMICO

- Ácido clorhídrico concentrado
- Ácido clorhídrico 1%, 5%
- Ácido nítrico
- Acetona Q.P
- Acetato de cobre 1%
- Acetato de etilo Q.P
- Agua destilada
- Benceno Q.P
- Bencina Q.P
- Cloroformo Q.P
- Carbón activado
- Cloruro férrico al 1%
- Etanol 70%
- Etanol 96%
- Fehling A y B
- Gelatina 1%
- Hipoclorito de sodio 2%
- Hexano Q.P
- Hidróxido de sodio 1%
- Hidróxido de potasio 10%
- Limaduras de magnesio metálico
- Metanol Q.P
- Reactivo de Benedict
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Shinoda
- Solución acuosa de ninhidrina al 1%

- Limaduras de Magnesio
- 13-Acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA) (Aceite de Crotón)

3.1.5.2. REACTIVOS PARA GEL

- Glicerina (humectante)
- Agua destilada (disolvente)
- Carboximetilcelulosa (gelificante)
- Metilparabeno (conservante)
- Propilparabeno (conservante)

3.1.5.3. REACTIVOS PARA PARCHES TRANSDÉRMICOS (TIPO MATRICIAL)

- Agua destilada (disolvente)
- Etanol 70% (disolvente)
- Etanol 96% (disolvente)
- Carboximetilcelulosa (gelificante y agente filmógeno)
- Metilparabeno (conservante)
- Propilparabeno (conservante)
- Glicerina (solución adhesiva)
- Carbopol (solución adhesiva)
- Polivinilalcohol (PVA) (promotor de la absorción)
- Alcohol Oleico (promotor de la absorción)
- Propilenglicol (agente filmógeno)
- Trietanolamina (agente neutralizante)
- Dimetil sulfoxido (DMSO) (promotor de la absorción)

3.1.6. DROGA EMPLEADA

- Diclofenaco 1% Gel
- Diclofenaco Parche

3.1.7. OTROS MATERIALES

- Colador plástico
- Mortero
- Espátula
- Guantes no quirúrgicos
- Sacabocados

3.2. DISEÑO METODOLÓGICO

3.2.1. TIPO DE ESTUDIO

El presente es un estudio cuasiexperimental porque se manipula al menos una variable independiente (extracto etanólico, formas farmacéuticas) para observar su efecto y su relación con una o más variables dependientes y así demostrar el efecto antiinflamatorio de la planta.

3.2.2. PRESENTACIÓN GRÁFICA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

3.2.2.1. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA EFECTIVA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (Altea)

G ₁	X ₁	X ₂	O ₁
G ₂	X ₁	X ₃	O ₂
G ₃	X ₁	X ₄	O ₃
G ₄	X ₁	X ₅	O ₄
G ₅	X ₁	X ₆	O ₅

Donde:

G₁: Grupo de 5 ratones para grupo control

G₂ G₃ G₄: Grupo de 5 ratones albinos que serán tratados con el extracto etanólico de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) al 2.5%, 5%, y 10%.

G₅: Grupo de 5 ratones para el fármaco patrón (diclofenaco)

X₁: (Agente Inflamatorio) Aplicación de 20 µL/oreja de aceite de crotón al 5%

X₂: Aplicación de 20 µL de suero fisiológico (Grupo control)

X₃: Aplicación de 20 µL del extracto etanólico al 2.5%

X₄: Aplicación de 20 µL del extracto etanólico al 5%

X₅: Aplicación de 20 µL del extracto etanólico al 10%

X₆: Aplicación del fármaco patrón diclofenaco 1% (0.5mg a cada oreja).

O₁, O₂, O₃, O₄, O₅: Medición del efecto antiinflamatorio (peso de orejas tratado y no tratado) a las 4 horas.

3.2.2.2. DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD DÉRMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (Altea)

G ₁	X ₁	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄
G ₂	X ₂	O ₅	O ₆	O ₇	O ₈
G ₃	X ₃	O ₉	O ₁₀	O ₁₁	O ₁₂

Donde:

G_{1, 2, 3}: Grupo de 3 cobayos albinos a los que se les aplicó el extracto etanólico al 70% de *Acaulimalva engleriana* (Altea)

X₁: Lado izquierdo del lomo del cobayo al que se le aplicó el extracto etanólico al 2.5%

X₂: Lado izquierdo del lomo del cobayo al que se le aplicó el extracto etanólico al 5%

X₃: Lado izquierdo del lomo del cobayo al que se le aplicó el extracto etanólico al 10%

O_{1, 5, 9}: Observación de reacción dérmica a 1 hora de aplicado el extracto

O_{2, 6, 10}: Observación de reacción dérmica a las 24 horas de aplicado el extracto

O_{3, 7, 11}: Observación de reacción dérmica a las 48 horas de aplicado el extracto

O_{4, 8, 12}: Observación de reacción dérmica a las 72 horas de aplicado el extracto

**3.2.2.3. PREFORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DE UN GEL TÓPICO
ELABORADO A BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70%
DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (Altea)**

G ₁	X ₁	X ₇	X ₈	X ₁₄	X ₂₀	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅
G ₂	X ₂	X ₇	X ₉	X ₁₅	X ₂₁	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅
G ₃	X ₃	X ₇	X ₁₀	X ₁₆	X ₂₂	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅
G ₄	X ₄	X ₇	X ₁₁	X ₁₇	X ₂₃	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅
G ₅	X ₅	X ₇	X ₁₂	X ₁₈	X ₂₄	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅
G ₆	X ₆	X ₇	X ₁₃	X ₁₉	X ₂₅	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅

Donde:

G₁: Formulaci3n N°1(F1)

G₂: Formulaci3n N°2 (F2)

G₃: Formulaci3n N°3 (F3)

G₄: Formulaci3n N°4 (F4)

G₅: Formulaci3n N°5 (F5)

G₆: Formulaci3n N°6 (F6)

X₁, X₂: Carboximetilcelulosa 0.6 g

X₃ Carboximetilcelulosa 0.7 g

X₄, X₅ Carboximetilcelulosa 0.5 g

X₆: Carboximetilcelulosa 1 g

X₇: Extracto etanólico

X₉: Trietanolamina 1 gta

X₁₄, X₁₅, X₁₆, X₁₇, X₁₈, X₁₉: Metilparabeno, propilparabeno

X₂₀: Glicerina 5 mL

X₂₁: Propilenglicol 2.5 mL

X₂₂, X₂₃, X₂₄: Glicerina 2.5 mL

X₂₅: Glicerina 5 mL

O₁: Evaluación de la compatibilidad de los excipientes

O₂: Evaluación de las características organolépticas (aspecto, color, olor, sensación al tacto, consistencia)

O₃: Control del pH (6.5)

O₄: Evaluación de densidad

O₅: Evaluación de extensibilidad

**3.2.2.4. PREFORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DEL PARCHE
TRANSDÉRMICO ELABORADO A BASE DEL EXTRACTO
ETANÓLICO AL 70% DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva
engleriana* (Altea)**

G ₁	X ₁	X ₇	X ₈	X ₁₄	X ₂₀	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄
G ₂	X ₂	X ₇	X ₉	X ₁₅	X ₂₁	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄

G ₃	X ₃	X ₇	X ₁₀	X ₁₆	X ₂₂	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄
G ₄	X ₄	X ₇	X ₁₁	X ₁₇	X ₂₃	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄
G ₅	X ₅	X ₇	X ₁₂	X ₁₈	X ₂₄	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄
G ₆	X ₆	X ₇	X ₁₃	X ₁₉	X ₂₅	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄

Donde:

G₁: Formulaci3n N°1(F1)

G₂: Formulaci3n N°2 (F2)

G₃: Formulaci3n N°3 (F3)

G₄: Formulaci3n N°4 (F4)

G₅: Formulaci3n N°5 (F5)

G₆: Formulaci3n N°6 (F6)

X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆: Carboximetilcelulosa a diferentes concentraciones

X₇: Principio activo

X₈, X₉, X₁₀, X₁₁, X₁₂, X₁₃: Soluci3n adhesiva (Agua destilada, etanol 70 °, glicerina y carbopol a diferentes concentraciones)

X₁₄, X₁₅, X₁₆, X₁₇, X₁₈, X₁₉: Promotor de absorci3n (Alcohol oleico a diferentes concentraciones)

X₂₀, X₂₁, X₂₂, X₂₃, X₂₄, X₂₅: Agente film3geno (Propilenglicol a diferentes concentraciones)

O₁: evaluaci3n de la compatibilidad de los excipientes

O₂: evaluación de las características organolépticas (aspecto, color, olor, sensación al tacto, consistencia).

O₃: evaluación de resistencia plegable.

O₄: evaluación de grosor.

3.2.2.5. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL GEL Y DEL PARCHE TRANSDÉRMICO ELABORADOS A PARTIR DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (Altea)

G ₁	X ₁	X ₂	O ₁
G ₂	X ₁	X ₃	O ₂
G ₃	X ₁	X ₄	O ₃
G ₄	X ₁	X ₅	O ₄
G ₅	X ₁	X ₆	O ₅
G ₆	X ₁	X ₇	O ₆

Donde:

G₁, G₂, G₃, G₄, G₅, G₆: Grupos experimentales formados por 5 ratones albinos cada uno.

X₁: (Agente Inflamatorio) 20 µL/oreja de aceite de crotón al 5%.

X₂: Aplicación de suero fisiológico (Grupo control del gel)

X₃: Aplicación del gel elaborado con extracto etanólico a la concentración más efectiva (5%)

X₄: Aplicación del fármaco patrón: Gel de Diclofenaco 1%

X₅: Aplicación de suero fisiológico (Grupo control)

X₆: Aplicación del parche transdérmico elaborado con extracto etanólico a la concentración más efectiva (5%)

X₇: Aplicación del fármaco patrón: parche de diclofenaco

O₁, O₂, O₃: Medición del efecto antiinflamatorio (peso de orejas tratadas y no tratadas) a las 4 horas.

O₄, O₅, O₆: Medición del efecto antiinflamatorio (peso de orejas tratadas y no tratadas) a las 8 horas.

3.3. IDENTIFICACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.3.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

3.3.1.1. Extracto etanólico al 70% de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea)

Definición conceptual: Se precisa tal sustancia extraída por etanol, que tiene una constitución química que le suministra una labor farmacológica ventajosa en terapéutica y que no ha doblegado otro procedimiento que el ineludible para su desecación y limpieza para una correcta conservación. (34)

Definición operacional:

- Naturaleza : Cuantitativa
- Medición : Directa
- Unidad de medida : mg
- Indicador : Peso del extracto expresado en miligramos.
- Escala : Razón
- Instrumento : Balanza electrónica de precisión 0.001g
- Procedimiento de medición : Se realizó el proceso de extracción de la muestra vegetal, una vez obtenida, se pesó la cantidad necesaria en mg
- Expresión final de la variable : mg del extracto etanólico al 70% de *Acaulimalva engleriana* (Altea).

3.3.1.2. Gel tópico elaborado a base del extracto etanólico al 70% de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea)

Definición conceptual: Es una forma farmacéutica de aplicación tópica que tiene incorporado extracto etanólico al 70% de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea). (24)

Definición operacional:

- Naturaleza : Cuantitativa
- Medición : Directa
- Escala : Razón
- Instrumento : Balanza electrónica de precisión de 0.001g
- Expresión final de la variable: g, mL

3.3.1.3. Parche transdérmico elaborado a base del extracto etanólico al 70% de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea)

Definición conceptual: Es la forma farmacéutica de los sistemas transdérmicos que tiene incorporado el extracto etanólico al 70% de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) (23)

Definición operacional:

- Naturaleza : Cuantitativa
- Medición : Directa
- Escala : Razón
- Instrumento : Balanza electrónica de precisión de 0.001g
- Expresión final de la variable: g

3.3.2. VARIABLES DEPENDIENTES

3.3.2.1. Efecto antiinflamatorio

Definición conceptual: Es una respuesta del tejido vascularizado, como refluencia y en una tentativa de ubicar al agente invasor, que pueden ser

sustancias extrañas como bacterias, etc. o en algunos casos a sustancias producidas internamente. (15)

Definición operacional

- Naturaleza : Cuantitativa
- Medición : Indirecta
- Unidad de medida : %
- Indicador : Inhibición del edema auricular
- Escala : Razón
- Instrumento : Balanza electrónica de precisión de 0.001g
- Procedimiento de medición: Se midió la diferencia de la oreja inflamada respecto a la oreja no inflamada.
- Expresión final de la variable: Porcentaje de inhibición de la inflamación.

3.3.3. VARIABLES INTERVINIENTES

3.3.3.1. De la planta en estudio

- Tiempo de recolección : Octubre del 2023
- Altitud de recolección : >3500 m.s.n.m.
- Estadío de crecimiento : En floración
- Temperatura de secado : Temperatura ambiente 15 °C

3.3.3.2. De la extracción

- Tipo de extracción : Etanólica
- Concentración del solvente : Alcohol etílico al 70%
- Tiempo de concentración : 1 mes
- Agitación periódica de la maceración : 3 veces al día.

3.3.3.3. De los animales de experimentación

3.3.3.3.1. Ratones albinos

- Especie : Ratones albinos *Mus musculus* comprados en un centro que cuenta con la certificación y el control de calidad respectivo. (Instituto Nacional de Salud Lima) (Anexo 3)
- Edad : 2 a 3 meses
- Peso : 25 – 30 gramos
- Alimentación y agua : a libre demanda

3.3.3.3.2. Cobayos de laboratorio

- Especie : Cobayos albinos especie *Cavia porcellus* comprados en un centro que cuenta con la certificación y el control de calidad respectivo. (Instituto Nacional de Salud Lima) (Anexo 4)
- Edad : 1 – 2 meses
- Peso : 500 gramos
- Alimentación y agua : a libre demanda

TABLA N° 5: IDENTIFICACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO	EXPRESIÓN FINAL
Independientes	Sustancia extraída por etanol que no ha sufrido otro tratamiento que el necesario para su limpieza y desecación para una correcta conservación (9)	Porcentaje de extracción: es el máximo valor de sólidos totales o extracto respecto al peso inicial del material crudo previamente triturado.	Peso final del extracto etanólico sobre el peso inicial de la muestra pulverizada en mg, multiplicado por cien	Cuantitativa	Directa	Razón	Balanza electrónica de precisión de 0.001g	% de extracción del extracto etanólico al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (Altea)
A. Extracto etanólico al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (Altea)								
B. Gel tópico elaborado a base del extracto al 70% de las raíces de	Forma farmacéutica de aplicación tópica que tiene incorporado extracto etanólico al 70% de las raíces de	Características organolépticas	Aspecto Color Olor Sensación al tacto	Cualitativa	Directa	Nominal	Observación directa	Aceptable, no aceptable

<i>Acaulimalva engleriana</i> (Altea)	<i>Acaulimalva engleriana</i> (Altea) (50)		Consistencia					
		Características fisicoquímicas	pH	Cuantitativa	Directa	Razón	pHmetro	Valor del pH
			Densidad	Cuantitativa	Indirecta	Razón		g/ml
			Humedad	Cuantitativa	Indirecta	Razón	Balanza	% de humedad
C. Parche transdérmico elaborado a base del extracto al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (Altea)	Forma farmacéutica de los sistemas transdérmicos que tiene incorporado el extracto etanólico al 70% de las raíces de <i>Acaulimalva engleriana</i> (Altea) (58)	Características fisicoquímicas	Grosor	Cuantitativa	Directa	Razón	Vernier	mm
			Variación de peso	Cuantitativa	Directa	Razón	Balanza analítica	mg
			Resistencia plegable	Cuantitativa	Directa	Razón	Observación directa	Número de dobleces

Dependientes	Es una respuesta del tejido vascularizado, como reacción y en un intento de localizar al agente invasor, que pueden ser sustancias extrañas como bacterias, etc. o en algunos casos a sustancias producidas internamente (39)	Porcentaje de inhibición de la inflamación: es el valor de la disminución del edema auricular expresado en porcentajes	Es el peso de la sección de la oreja tratada menos la oreja no tratada del grupo control menos el grupo a evaluar por cien	Cuantitativa	Indirecta	Razón	Balanza analítica de 0.0001 g de sensibilidad	Porcentaje de inhibición de la inflamación
A. Efecto antiinflamatorio								

Variables intervinientes A. De la planta en estudio		Tiempo de recolección	Octubre de 2023
		Altitud de recolección	Mayor a 3500 m.s.n.m
		Estadio de crecimiento	Floración
		Temperatura de secado	Temperatura ambiente 15°C
B. De la extracción		Tipo de extracción	Etanólica
		Concentración del solvente	Alcohol etílico al 70%
		Tiempo de concentración	1 mes
		Agitación periódica de la maceración	3 veces al día
	Ratones albinos	Especie	Ratones albinos <i>Mus musculus</i> comprados en un centro que cuenta con el control de calidad y la certificación correspondiente. (Instituto Nacional de Salud Lima) (Anexo 3)
		Edad	2 a 3 meses
		Peso	25 - 30 gramos
		Alimentación	Agua y alimento a libre demanda

C. De los animales de experimentación		Ambiente de crianza	Laboratorio de tecnología farmacéutica de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica a una T° de 20 ± 2°C
	Cobayos de laboratorio	Especie	Cobayos albinos especie <i>Cavia porcellus</i> comprados en un centro que cuenta con el control de calidad y la certificación correspondiente. (Instituto Nacional de Salud Lima) (Anexo 4).
		Edad	1-2 meses
		Peso	500 gramos
		Alimentación	Agua y alimento a libre demanda
		Ambiente de crianza	Laboratorio de tecnología farmacéutica de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica a una T° de 20 ± 2°C

Fuente: Elaboración propia

3.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

3.4.1. DE LA MUESTRA VEGETAL

- **CRITERIOS DE INCLUSIÓN:**

Raíces enteras de *Acaulimalva engleriana* (Altea) libres de contaminación (microorganismos, hongos y ataque de plagas)

- **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:**

Raíces en estado de putrefacción, secas, o contaminadas con hongos, microorganismos de *Acaulimalva engleriana* (Altea)

3.4.2. DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

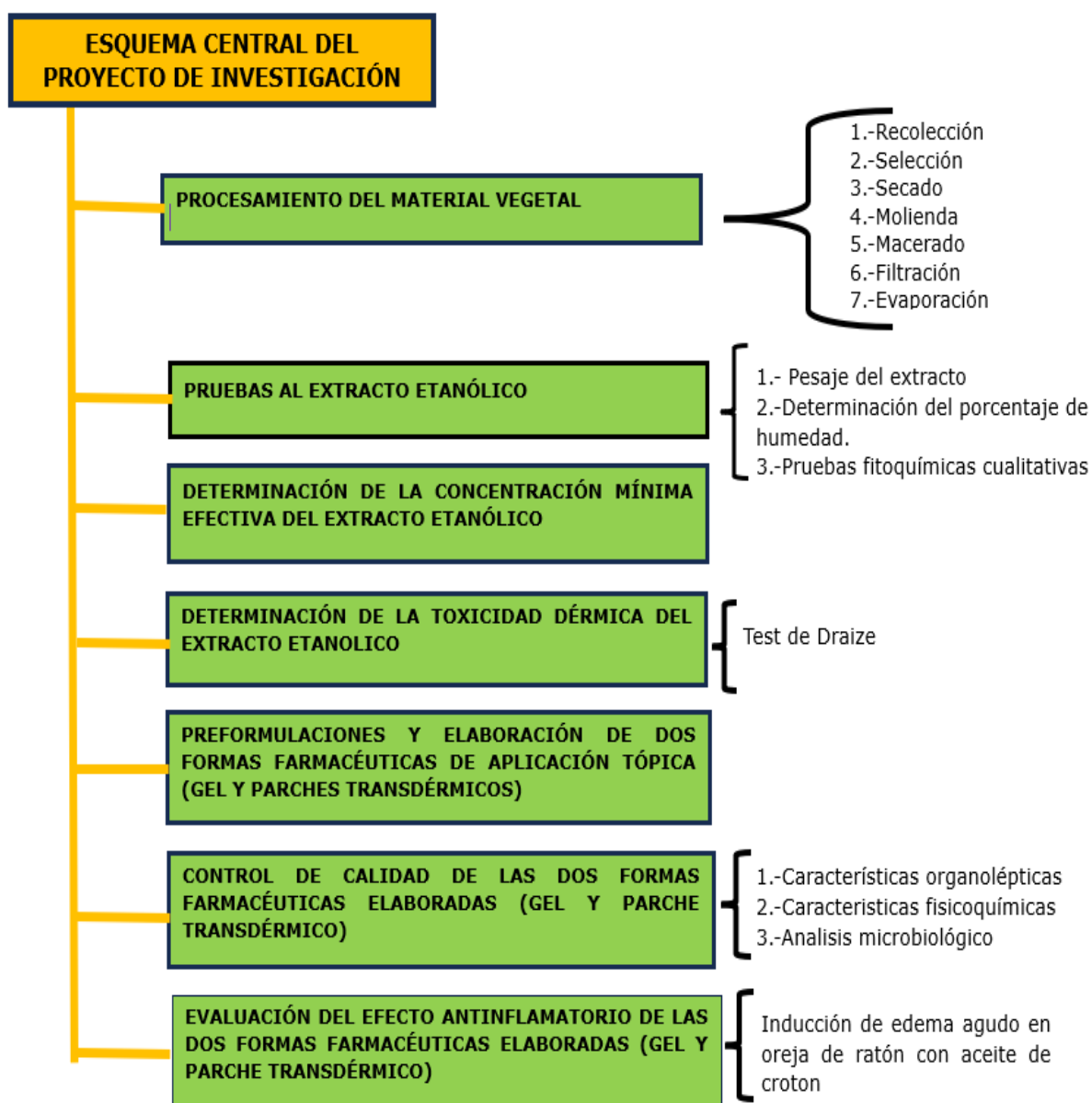
- **CRITERIOS DE INCLUSIÓN:**

Ratones de la especie *Mus musculus* (ratón albino) de 2 a 3 meses de edad y de pesos comprendidos entre 25 a 30 g.

- **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:**

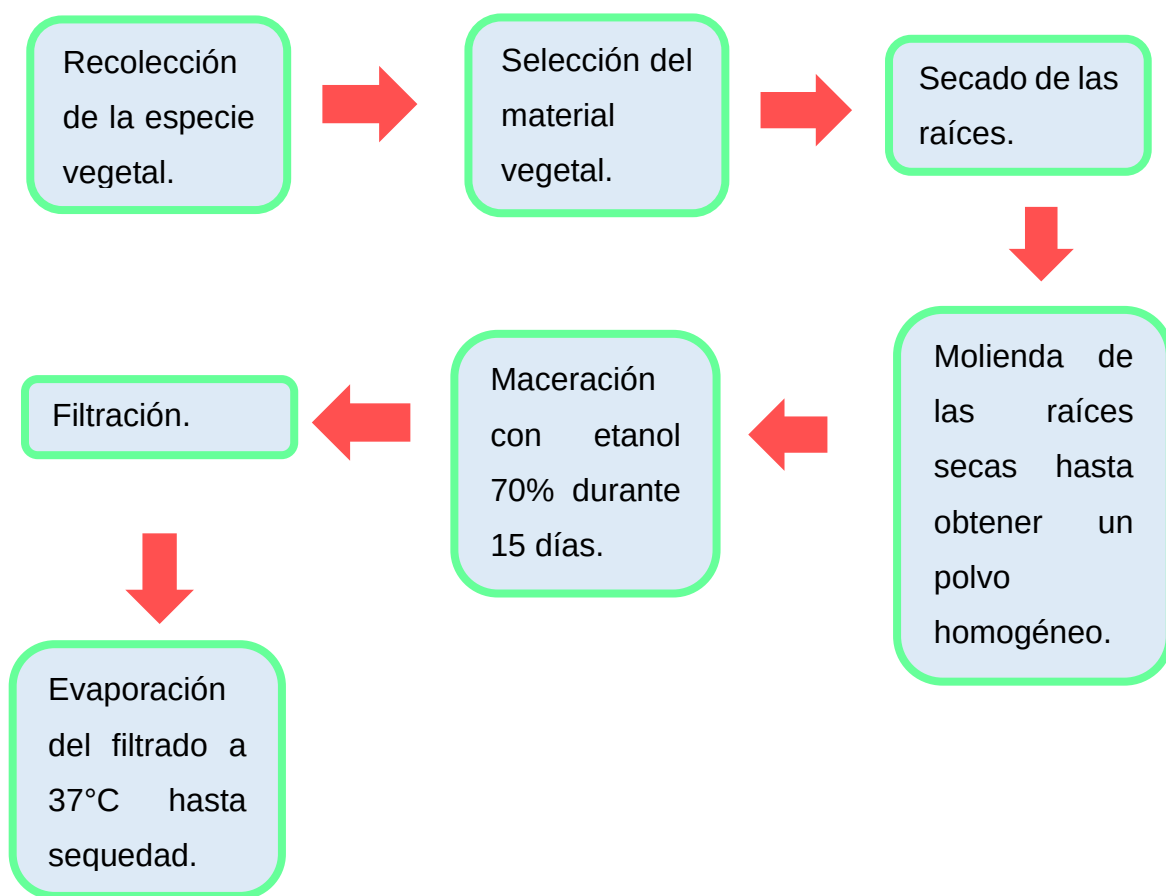
- Ratones de la especie *Mus musculus* hembras que presenten alguna enfermedad y que estuvieran fuera del peso promedio establecido.

3.5. PROCEDIMIENTO



FLUJOGRAMA N° 1: ESQUEMA CENTRAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

3.5.1. PROCESAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL



FLUJOGRAMA N° 2: ESQUEMA DE OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO

FUENTE: Elaboración propia

3.5.1.1. Recolección

La especie vegetal fue recolectada en su estado natural en bolsas de papel craft, en el departamento del Cusco, provincia de Paruro, distrito de Yaurisque, comunidad Araycalla - Anyarate a una altura aproximada de 3900 m.s.n.m. (Ver fotografía N° 2)

3.5.1.2. Selección

Se seleccionaron raíces enteras, sanas, que no mostraron daño ni contaminación microbiana.

3.5.1.3. Secado

El secado de la especie vegetal recolectada (raíces) se efectuó en un entorno limpio, aireado, a temperatura ambiente y protegidos del sol (Ver fotografía N°3).

3.5.1.4. Molienda

La muestra seca fue triturada a polvo en un molino de granos, luego se tamizó hasta obtener un espécimen homogéneo, que fue llenado en un frasco ámbar y tapa cerrada (Ver fotografía N°4).

3.5.1.5. Maceración

La muestra seca se ubicó en un frasco ámbar con etanol al 70% para su maceración, este proceso se realizó a temperatura ambiente durante 15 días (Ver fotografía N°5).

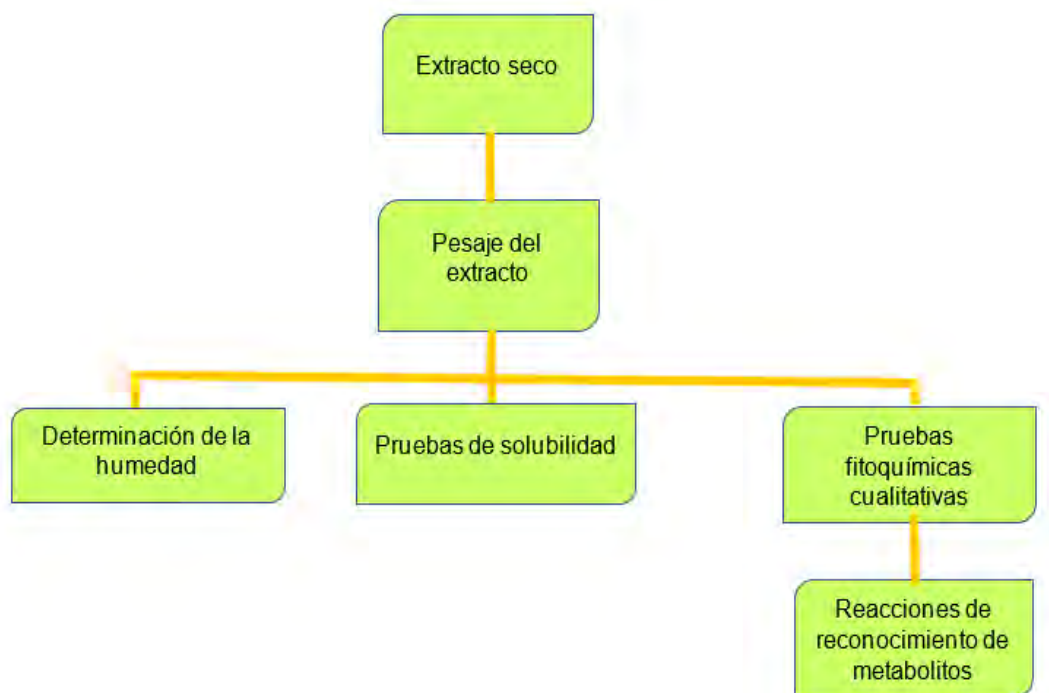
3.5.1.6. Filtración

Una vez macerada, la muestra se filtró con ayuda de papel filtro en envases de boca ancha con el soporte de un embudo, la filtración se realizó para conseguir la mayor cantidad de extracto posible (Ver fotografía N°6 y 7).

3.5.1.7. Evaporación

Se realizó con la ayuda de un Rotavapor seguido de evaporación en Baño María a 37 °C, para no desnaturalizar los metabolitos, el cual conserva nuestra planta, hasta sequedad (Ver fotografía N°8).

3.5.2. PRUEBAS AL EXTRACTO ETANÓLICO



FLUJOGRAMA N° 3: PRUEBAS AL EXTRACTO ETANÓLICO-ESQUEMA

FUENTE: Elaboración propia

3.5.2.1. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

La determinación de la humedad siguiendo el método gravimétrico (Anexo N° 7), se ejecutó por triple, en placas Petri con 10 g de espécimen fresco de la planta, las cuales fueron insertadas en una estufa a temperatura de 40 °C hasta peso firme (Ver fotografía N°10) a fin de inmediatamente determinar el % de humedad por medio de la sucesiva relación:

$$\% H = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

Donde:

% H = Porcentaje de humedad.

M1 = Peso de la muestra fresca.

M2 = Peso de muestra seca.

3.5.2.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO: PESAJE DEL EXTRACTO

Una vez evaporado la muestra a una temperatura de 37 °C, se obtuvo el extracto etanólico de *Acaulimalva engleriana* (Altea) el cual fue usado para las diferentes pruebas (Ver fotografía N°4).

3.5.2.3. PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN

El % de rendimiento de la extracción se calculó mediante la sucesiva fórmula:

$$\%EES = \frac{P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

%EES= Porcentaje de extracción del extracto etanólico

Pf= Peso final (extracto seco)

Pi= Peso inicial (muestra pulverizada)

3.5.2.4. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

A fin de efectuar las pruebas de solubilidad se tomó cerca de 100 mg del extracto seco en distintos tubos de ensayo; a cada uno de ellos se añadió 1ml de solvente de polaridades diferentes, en forma descendente como se exhibe en la tabla N° 6. (Anexo 8)

TABLA N° 6: SOLVENTES MÁS UTILIZADOS PARA PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

SOLVENTES	
Agua destilada	Acetato de etilo
Metanol	Éter etílico
Etanol al 40%	Cloroformo
Etanol al 50%	Benceno
Etanol al 70%	Hexano
Etanol al 90%	Éter de petróleo
Acetona	Bencina

FUENTE: Official Methods of Analysis. 1990. 5ta Ed. AOAC. USA (62)

3.5.2.5. PRUEBA FITOQUÍMICA CUALITATIVA

Se separó pequeñas cantidades del extracto obtenido para la ejecución de la marcha fitoquímica aprovechando así las reacciones de coloración lo cual nos permitieron detectar los metabolitos secundarios del extracto de *Acaulimalva engleriana* (Altea) (tabla N°7) (ver Anexo N°9)

TABLA N° 7: REACTIVOS USADOS EN LA PRUEBA FITOQUÍMICA CUALITATIVA

METABOLITO SECUNDARIO	REACTIVO
Azúcares reductores	Benedict
Glicósidos	Benedict
Aminoácidos	Ninhidrina
Flavonoides	Shinoda
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico
Alcaloides	Dragendorff y Mayer
Taninos	Gelatina-sal
Saponinas	Prueba de espuma
Lactosas	Hidroxamato férrico
Cumarinas	Baljet
Esteroides	Lieberman – Burchard
Quinonas	Borntrager
Resinas	Acetato de cobre 1%

FUENTE: Official Methods of Analysis. 1990. 5ta Ed. AOAC. USA (62)

3.5.3. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA EFECTIVA ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (Altea)

3.5.3.1. Animales de experimentación

Se utilizaron 25 especímenes *de* ratones (especie *Mus musculus*.), de 2 meses de edad y con un peso comprendido entre 25 a 30 g divididos en 5 grupos de 5 ratones cada uno, proporcionados por el Instituto Nacional de Salud, centro que cuenta con la certificación de calidad acreditada.

Una semana previa a su utilización fueron agrupados en jaulas en grupos de 5 para su aclimatación. Los animales de experimentación se mantuvieron durante todo el desarrollo del trabajo de investigación con alimentación normal y agua a demanda propia con ciclos de luz/ oscuridad de 12 horas, en un ambiente sin exposición directa a fuentes de luz intensa, con una humedad relativa entre 30 a 70%, y con buena ventilación (65).

3.5.3.2. Método utilizado: EDEMA AGUDO EN OREJA DE RATÓN INDUCIDO POR ACEITE DE CROTÓN (12-O- TETRADECANOIL FORBOL-13 ACETATO (TPA)) (ver Anexo N° 13)

Se siguió la técnica descrita por De Young (1989) modificada por Payá et al. (1992). El TPA es un poderoso agente flogógeno y causante de tumores el cual se hallan en el aceite de crotón (*Croton tiglium* L.). La administración tópica de TPA origina un edema agudo.

3.5.3.3. Procedimiento

Una semana antes, se realizó la distribución de los grupos de experimentación para su aclimatación como se muestra en la tabla N° 8.

Con la ayuda de una micropipeta se administró 2,5 µg/oreja de TPA disueltos en 20 µL de acetona, a razón de 10 µL por cada lado de la oreja derecha del *Rattus* (superficie externa e interna). Se esperó un tiempo aproximado de 40 minutos

hasta evidenciar signos de inflamación. Este procedimiento se realizó en todos los grupos de experimentación.

Las diferentes concentraciones del extracto etanólico (2.5%, 5%, 10%) fueron disueltos en 20 μ L de etanol al 70% y administrados a cada animal de experimentación a razón de 10 μ L a cada lado de la oreja derecha. El fármaco de referencia utilizado fue el diclofenaco a la cantidad de 0,5 mg/oreja para cada animal por experimentación a cada lado de la oreja derecha. Para el grupo control se administró 10 μ L de suero fisiológico a cada lado de la oreja derecha de los animales de experimentación.

El edema es máximo 4 horas posteriormente de la aplicación del agente irritante por lo que se esperó ese tiempo, luego se siguió con el sacrificio de los animales aplicando una dislocación cervical y a continuación se cortaron trozos de ambas orejas (tratada y no tratada) con un sacabocados de 5 mm de diámetro, los cuales se pesaron individualmente. Las orejas se pesaron individualmente. La diferencia entre estos dos valores (oreja tratada y no tratada) determina el edema y la actividad antiinflamatoria. Se evaluó el efecto antiinflamatorio mediante el cálculo del porcentaje de inhibición del edema.

TABLA N° 8: DISTRIBUCIÓN DE GRUPOS PARA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)

Grupos	Número de animales	Dosis
Control	5	-----
Extracto etanólico seco 1	5	2.5%
Extracto etanólico seco 2	5	5%
Extracto etanólico seco 3	5	10%
Estándar(Diclofenaco)	5	0.5mg/oreja

3.5.3.4. Evaluación de resultados

Se tomó el peso de las orejas circulares de cada ratón (tratada y no tratada).

La resta de la oreja tratada y no tratada manifiestan el edema según la sucesiva fórmula:

$$Edema = (Pt - Pnt)$$

Donde:

Pt = Es el peso de la oreja tratada

Pnt = Es el peso de la sección de oreja no tratada

El porcentaje de inhibición se define como la acción que contrarresta la inflamación, y matemáticamente se expresa de la siguiente manera:

$$\%Inh = \frac{(Pt - Pnt)_{control} - (Pt - Pnt)_{tratado}}{(Pt - Pnt)_{control}} \times 100$$

Donde:

Pt: Es el peso de la sección de la oreja tratada

Pnt: Es el peso de la sección de la oreja no tratada

(Pt – Pnt) control: es el valor de edema obtenido del grupo control

(Pt – Pnt) tratado: es el valor de edema obtenido de los grupos problema y grupo patrón

3.5.4. DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD DÉRMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70 % DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (Altea)

3.5.4.1. Procedimiento

Se realizó mediante el Test de Draize (63) (Anexo 12)

Se utilizaron 09 cobayos albinos, debidamente certificados (Anexo N°04), divididos en tres grupos de tres, se depiló la zona dorsal de ambos lados de cada uno de los cobayos un área de 7cm², un día previo al ensayo, para evitar alguna irritación dérmica (Ver fotografía N°13 y 14). Se aplicó 0.5mL de extracto etanólico a diferentes concentraciones (10%, 20%, 30%) en el área derecho depilado (6x6 cm) y 0.5 ml de suero fisiológico en el área izquierdo depilado (grupo control). El extracto por ensayar se conservó en contacto a la piel cubierto por una gasa estéril y fijado con esparadrapo hipoalergénico durante 4 horas, terminado ese tiempo se retiraron los apósitos (Ver fotografía N°15, 16, 17, 18). Por último, se observó la formación o no de eritema, edema e irritación a los 60 minutos, 24, 48 y 72 horas.

3.5.4.2. Determinación de irritación primaria (SPI) e índice de irritación primaria (PII) (63)

Las categorías de las posibles respuestas de la piel de cobayo al contacto con las muestras en estudio se presentan en la tabla N° 9, dándose un valor de 0 a 4 según la intensidad del edema o del eritema desencadenado durante el test de Draize; el valor máximo posible de la sumatoria de ambos parámetros **corresponde a un total de 8.**

El valor de irritación primaria en cada cobayo se determinó calculando la suma de valores de eritema y edema (observados a 1, 24, 48, y 72 horas) fraccionado entre el Nro. de exámenes de la zona tratada (lado derecho) menos la suma de valores de eritema y edema (observados a 1, 24, 48, y 72 horas) partido entre el número de exámenes de la zona control (lado izquierdo). Este fue clasificado con la tabla N° 10.

TABLA N° 9: ESCALA DE VALORACIÓN DE LA IRRITACIÓN PRIMARA (SPI) (TEST DE DRAIZE) PARA LA EVALUACIÓN DE REACCIONES DÉRMICAS

FORMACIÓN DE ERITEMA-ESCARA	VALOR
Ausencia de eritema	0
Eritema ligero (apenas perceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema de moderado a severo	3
Eritema muy severo (rojo remolacha, lesiones profundas)	4
FORMACIÓN DE EDEMAS	VALOR
Ausencia de edema	0
Edema muy ligero (apenas perceptible)	1
Edema ligero (bordes del área bien definidos por un levantamiento definido)	2
Edema moderado (levantamiento aproximado 1mm)	3
Edema severo (levantamiento de más de 1mm y extendiéndose más allá del área de exposición)	4

Fuente: Draize JH, Woodard G, Calvery HO. Methods for the study of irritative and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. 1944. Journal of Pharmacy and Experimental Therapeutics 82: 377-390 (63)

TABLA N° 10: CATEGORÍAS DE ÍNDICE DE IRRITACIÓN PRIMARIA (PII) MEDIANTE EL TEST DE DRAIZE

Tasa descriptiva	Indice de Irritación Primaria (PII)	Criterios de aceptación
Insignificante	0.00 – 0.49	Se aprueba (No irritante)
Levemente irritante	0.50 – 1.99	
Moderada irritación	2.00 – 4.99	Se rechaza (Irritante)
Severa irritación	5.00 – 8.00	

Fuente: Draize JH, Woodard G, Calvery HO. Methods for the study of irritative and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. 1944. Journal of Pharmacy and Experimental Therapeutics 82: 377-390 (63)

3.5.5. PREFORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DEL GEL

3.5.5.1. INGREDIENTES

- Extracto etanólico de *Acaulimalva engleriana* (Altea) al 5 %
- Carboximetilcelulosa
- Glicerina
- Metilparabeno
- Propilparabeno
- Agua destilada

3.5.5.2. PROCEDIMIENTO GENERAL

- Se pesaron todos los ingredientes.
- Se disolvieron los conservantes (metilparabeno y propilparabeno) en 50 ml de agua destilada y calentaron hasta 60°C.
- En un mortero se adicionó la carboximetilcelulosa dispersando homogéneamente en la superficie de glicerina, se agitó hasta obtener una pasta homogénea.

- Se añadió la pasta anterior al agua con los conservantes y se agitó rápidamente hasta la formación del gel.
- Se colocó 5 g del extracto en una pequeña cantidad de agua destilada para luego ser llevado a baño maría. Posteriormente se adicionó al gel base cuando la temperatura del mismo se encuentre entre 37°C.
- Finalmente, los geles obtenidos se trasvasaron a los envases adecuados.

3.5.5.3. PARÁMETROS A TOMAR EN CUENTA PARA LA ELABORACIÓN DEL GEL (64)

3.5.5.3.1. Compatibilidad de excipientes

Para esta prueba se tomó en cuenta la formación o no de precipitado o turbidez y la formación de espuma tras la agitación mecánica de los excipientes. La presencia de abundante espuma y formación de precipitado indica una incompatibilidad de excipientes.

3.5.5.3.2. Características organolépticas

Se realizó por observación directa y se tomó en cuenta el aspecto, color, olor, sensación al tacto y consistencia. Para esta prueba se tomaron alícuotas de 2 mL.

3.5.6. PREFORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DEL PARCHE TRANSDÉRMICO

3.5.6.1. INGREDIENTES

- Extracto etanólico de *Acaulimalva engleriana* (Altea)
- Carboximetilcelulosa
- PVA (Polivinil alcohol)
- Carbopol
- Glicerina
- 1,2 propilenglicol
- Alcohol Oleico

- DMSO (Dimetilsulfoxido)
- Etanol 70°
- Papel siliconado
- Papel de aluminio
- Agua destilada

3.5.6.2. PROCEDIMIENTO GENERAL

1. Se pesaron los ingredientes.
2. En un vaso de precipitados se preparó la solución adhesiva (agua, etanol 70°, glicerina y carbopol).
3. En otro vaso de precipitados se disolvió el agente polimérico (Carboximetilcelulosa, PVA) en agua destilada.
4. La solución anterior se incorporó a la primera mezcla seguido del agente filmógeno (1,2 Propilenglicol)
5. Se añadió el extracto etanólico disuelto en etanol 70%
6. Se añadió el promotor químico de absorción (DMSO, Alcohol Oleico) y se mezcló hasta obtener una pasta homogénea.
7. Aproximadamente 20 mL de la mezcla se trasvasó a una placa Petri de 12cm de diámetro para luego ser colocada en estufa a 40° durante 24 horas
8. Se colocó una lámina protectora (papel siliconado)
9. Los parches se recortaron y empaquetaron en sobres de papel de aluminio sellados

3.5.6.3. PARÁMETROS A TOMAR EN CUENTA PARA LA ELABORACIÓN DE UN PARCHÉ TRANSDÉRMICO

3.5.6.3.1. Compatibilidad de excipientes

Para esta prueba se tomó en cuenta la formación o no de precipitado o turbidez y la formación de espuma tras la agitación mecánica de los excipientes. La presencia de abundante espuma y formación de precipitado indica una incompatibilidad de excipientes.

3.5.6.3.2. Características organolépticas

Se realizó por observación directa y se tomaron en cuenta el aspecto, color, olor, sensación al tacto y consistencia. Para esta prueba se tomaron alícuotas de 2 ml.

3.5.7. CONTROL DE CALIDAD DE LAS DOS FORMAS FARMACÉUTICAS ELABORADAS (GEL Y PARCHÉ TRANSDÉRMICO)

3.5.7.1. CONTROL DE CALIDAD DE UN GEL

3.5.7.1.1. Características organolépticas (68)

- **Aspecto:** Se realizó por observación visual directa, y se verificó si ocurrieron modificaciones macroscópicas como presencia de grumos o partículas sólidas las cuales no deben estar presentes, así como no presentar signos visibles de separación de fases, es decir, presentar un aspecto homogéneo.
- **Color:** Se realizó por observación visual directa con presencia de luz blanca o natural. Se verifica si existe variación de color de cada formulación. La aparición de color amarillo o pardo puede indicar procesos oxidativos en el excipiente.
- **Olor:** Se realizó de forma directa a través del olfato. Se verifica las variaciones en el aroma de las muestras. La percepción de olor desagradable puede indicar el enranciamiento de grasas, acompañado de un cambio en el color.
- **Sensación al tacto y consistencia:** Se tomó una alícuota de 2ml del gel con los dedos y se extendió suavemente en el dorso de la mano.

3.5.7.1.2. Características fisicoquímicas

- **pH:** Se determinó con la ayuda de tiras indicadoras de pH (68).
 - o Colocar 2gr de la formulación en un vaso precipitado

- o Humedecer las tiras reactivas indicadoras de pH en la muestra y esperar el tiempo indicado en las instrucciones del fabricante (hasta que vire de color).
- o Comparar el color de la tira indicadora con los estándares de la caja de tiras.
- o El pH debe estar entre 6 y 7.
- **Densidad:** Se realizó mediante el método gravimétrico.
- **Humedad:** Se realizó mediante el método gravimétrico:
 - o Pesar 1 gr de la formulación en una placa Petri previamente pesada y extender.
 - o Llevar a estufa a una temperatura aproximada de 80 °C durante 4 horas, pasado este tiempo dejar enfriar y pesar.
 - o Para hallar el % de humedad se utilizó la sucesiva fórmula:

$$\% H = \frac{(P + Mi) - (P + Mf)}{(P + Mi) - P} \times 100$$

Donde:

% H = Porcentaje de humedad.

P = Peso de la placa Petri

Mi = Peso de la muestra fresca (inicio)

Mf = Peso de la muestra seca (final)

3.5.7.1.3. Estudio reológico: Extensibilidad (68)

Esta prueba se realizó por triplicado de la siguiente manera:

- Colocar una placa de vidrio de 20 x 20 cm encima de una hoja de papel milimetrado a la que se trazaron diagonales.
- Sobre la placa colocar 1 g de la formulación en el punto de intersección y anotar el radio formado.

- Ubicar una placa Petri encima de la muestra durante 1 minuto y anotar el radio formado.
- El área de extensibilidad (AE) se calculó usando la sucesiva fórmula:

$$AE = \pi(rp)^2$$

Donde:

Rp = Radio promedio

3.5.7.2. CONTROL DE CALIDAD DE UN PARCHES TRANSDÉRMICO

3.5.7.2.1. Propiedades fisicoquímicas

- **Grosor:** Se determinó con la ayuda de un vernier, registrándose una media de tres determinaciones.
- **Variación de peso:** Se pesaron tres parches transdérmicos individualmente y se calculó el peso medio.
- **Porcentaje de Humedad:** Los parches experimentados se trozaron en tiras de 20 x 50 mm, se pesaron uno por uno y se conservaron en un desecador con cloruro cálcico a 37°C por el tiempo de 24 horas. Los parches se retornaron a pesar a cada uno hasta conseguir un peso firme. El porcentaje de humedad se calculó mediante la sucesiva fórmula:

$$\% H = \frac{Pi - Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:

% H = Porcentaje de humedad.

Pi = Peso inicial del parche

Pf = Peso final del parche

- **Resistencia plegable:** Se determinó doblando repetidamente cada parche en el mismo lugar hasta que se rompa. Esta prueba se realizó por triplicado.

3.5.7.2.2. Contenido de fármaco

Se pesaron y cortaron con exactitud los parches de 2x2cm para cada una de las concentraciones incluido el blanco. Los trozos se colocaron en un matraz volumétrico de 100mL, se añadió 50mL de disolución tampón de fosfato (pH 7.4) y se conservó en un agitador por el tiempo de 12 horas (25). Pasado el tiempo, la disolución se destiló y se examinaron las muestras por espectrofotometría a diferentes rangos de longitud de onda para determinar la longitud de onda a la cual se leyó en el posterior estudio de liberación *in-vitro*.

3.5.7.2.3. Estudios de liberación *in-vitro*:

Se empleó el método de paleta sobre disco (aparato 5 USP) para examinar la liberación del extracto desde los parches. Los parches de grosor se cortaron en cuadrados de 1cm, se pesaron y se establecieron a la placa de vidrio con cinta adhesiva (25). A continuación, la placa de vidrio se colocó en un tampón fosfato de 500mL (pH 7.4) y el aparato se equilibró a 32 $\pm$ 0.5°C. La paleta se ubicó a un trayecto de 2.5 cm de la placa de vidrio y se colocó en labor a una velocidad de 5 rpm. Las muestras (alícuotas de 5 mL) fueron extraídas a intervalos de tiempo adecuado (5, 10, 15, 30, 45 minutos y de 1, 2, 4, 6, 8, 10 horas) y se examinaron a fin de establecer el contenido de fármaco (extracto) con un espectrofotómetro. La prueba se realizó por triplicado y se calculó el valor medio (25).

3.5.8. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LAS DOS FORMAS FARMACÉUTICAS ELABORADAS (GEL Y PARCHES TRANSDÉRMICO)

3.5.8.1. Animales de experimentación

Se utilizaron 30 especímenes de ratones (especie *Mus musculus*), de 3 meses de edad y con un peso comprendido entre 25 a 30 g divididos en 6 grupos de 5 ratones cada uno.

Los animales de experimentación se mantuvieron durante todo el desarrollo del trabajo de investigación con alimentación normal y agua a demanda propia. Una semana previa a su utilización fueron agrupados en jaulas para su aclimatación.

3.5.8.2. Método utilizado: EDEMA AGUDO EN OREJA DE RATÓN INDUCIDO POR ACEITE DE CROTÓN (12-0- TETRADECANOIL FORBOL-13 ACETATO (TPA)) (62)

Se siguió la técnica descrita por De Young (1989) modificada por Payá et al. (1992). El TPA es un potente agente flogógeno y promotor de tumores que se halla en el aceite de crotón (*Croton tiglium* L.). La administración tópica de TPA induce un edema agudo.

3.5.8.3. Procedimiento

TABLA N° 11: DISTRIBUCIÓN DE GRUPOS PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LAS DOS FORMAS FARMACÉUTICAS ELABORADAS

	Grupos	Número de animales
G1	Control (Suero fisiológico)	5
G2	Gel	5
G3	Estándar (Gel de diclofenaco 1%)	5
G4	Control (Parche)	5
G5	Parche elaborado	5
G6	Estándar (Diclofenaco parche)	5

Fuente: Elaboración propia

Una semana antes, se realizó la distribución de los grupos de experimentación para su aclimatación como se muestra en la tabla N° 11.

Con la ayuda de una micropipeta se administró 2,5 µg/oreja de TPA disueltos en 20 µL de acetona, a razón de 10 µL por cada lado de la oreja del ratón (superficie externa e interna).

Se esperó un tiempo aproximado de 40 minutos desde la aplicación del aceite de croton hasta evidenciar signos de inflamación, para luego aplicar el gel elaborado y el parche transdérmico a cada ratón según corresponde.

El gel elaborado fue administrado a razón de 10 µL a cada lado de la oreja del ratón, el fármaco de referencia fue gel de diclofenaco al 1% a la cantidad de 0,5 mg/oreja también disuelto en 20 µL de etanol al 70% y administrado a cada animal de experimentación a razón de 10 µL a cada lado de la oreja. Para el grupo control se administró 10 µL de suero fisiológico a cada lado de la oreja de los animales de experimentación. El parche transdérmico se administró en el lomo derecho.

Después de la aplicación del agente inflamatorio se esperó el tiempo necesario de aproximadamente 4 horas (para los grupos G1, G2, G3 del gel tópico) y 8 horas (para los grupos G4, G5 y G6 del parche transdérmico) a fin de provocar la inflamación máxima. Seguidamente se procedió al sacrificio de los roedores ejerciendo una dislocación cervical y a continuación se cortó trozos de ambas orejas (oreja tratada y no tratada) con un sacabocados de 5 mm de diámetro, los cuales se pesaron específicamente.

La diferencia entre estos dos valores (oreja tratada y no tratada) determina el edema y la actividad antiinflamatoria. Se evaluó el efecto antiinflamatorio por medio del cálculo del % de inhibición del edema. (35)

3.5.8.4. Evaluación de resultados

Se consignaron los pesos de las áreas circulares de las orejas de cada roedor (no tratada y tratada).

El edema se establece por la diferencia de las secciones de la oreja tratada y no tratada usando la siguiente fórmula:

$$4. \text{ Edema} = (Pt - Pnt)$$

Donde:

Pt = Es el peso de la sección de la oreja tratada

Pnt = Es el peso de la sección de la oreja no tratada

El porcentaje por inhibición se calculó usando la siguiente fórmula

$$5. \%Inh = \frac{(Pt-Pnt)_{control} - (Pt-Pnt)_{tratado}}{(Pt-Pnt)_{control}} \times 100$$

Donde:

Pt: Es el peso de la sección de la oreja tratada

Pnt: Es el peso de la sección de la oreja no tratada

(Pt – Pnt) control: es el valor de edema obtenido del grupo control

(Pt – Pnt) tratado: es el valor de edema derivado de los grupos problema y grupo patrón

3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

Hacia la recolección de datos, adquisición por buena información y para un buen procesamiento de los resultados, se realizaron las siguientes fichas de recolección de datos:

- Para el valor del porcentaje de humedad (Anexo N° 6)
- Para las pruebas de solubilidad (Anexo N° 7)
- Para el análisis fitoquímico cualitativo (Anexo N° 8)
- Para la determinación del % de inhibición de la inflamación del extracto (Anexo N° 9)
- Para los porcentajes de inhibición del gel y el parche transdérmico (Anexo N° 10)

- Para la determinación de la toxicidad dérmica aguda (Anexo N° 11)

3.7. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA INFORMACIÓN

Los resultados logrados fueron procesados de acuerdo con métodos estadísticos establecidos para la comparación de medias obtenidas en los grupos de experimentación según los niveles de tratamiento.

Para el análisis estadístico de la evaluación del efecto antiinflamatorio de extracto se determinó la significación estadística entre los grupos trabajados con el extracto y el grupo control con el análisis por varianza (ANOVA).

Posteriormente, para el análisis estadístico de la evaluación del efecto antiinflamatorio del gel tópico y parche transdérmico se efectuaron las pruebas por comparaciones múltiples, mediante el Método de Tukey, que es una de las pruebas post hoc más utilizadas después de un ANOVA para agrupar y ordenar las medias de los datos de las poblaciones muestrales a cada grupo de experimentación con la finalidad de comparar cada una de las medias.

CAPITULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)

TABLA N° 12: DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)

PESOS	N° DE DETERMINACIONES		
	1	2	3
PESO DE MUESTRA FRESCA (M1)	10.10 g	10.01 g	10.02 g
PESO DE MUESTRA SECA (M2)	6.90 g	6.96 g	6.99 g
PORCENTAJE DE HUMEDAD	31.68 %	30.47 %	30.24 %
PORCENTAJE PROMEDIO DE HUMEDAD	30.67 %		

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a datos experimentales del estudio

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

La tabla N° 12 muestra el porcentaje de humedad de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea), el cual se realizó mediante el método gravimétrico por triplicado, dando como resultado un porcentaje promedio de humedad de 30.67%.

La determinación del porcentaje de humedad es una de las determinaciones analíticas más sustanciales y utilizadas en plantas; en base a ello, se establecen las condiciones de manejo, secado, almacenamiento y procesamiento.

Por ejemplo, si una planta presenta porcentajes de humedad altos, tras su recolección pueden llevarse a cabo diferentes reacciones enzimáticas que pueden traer efectos nocivos para el aspecto y peculiaridades organolépticas, y hacia el contenido de principios activos y las consecuentes actividades terapéuticas de la misma, también de beneficiar el desarrollo de microorganismos y la evanescencia debido a que las plantas poseen varios tipos de enzimas como son oxidasas, hidrolasas, entre otras (69).

En vista de que *Acaulimalva engleriana* (Altea) presenta un bajo porcentaje de humedad, estas reacciones enzimáticas se ven disminuidas por lo que el proceso de secado y conservación es óptimo.

Haciendo una comparación con los trabajos de investigación realizados por Huancahuire (22) y Sarmiento (24) de la misma especie (*Acaulimalva engleriana*), los cuales obtuvieron porcentajes de humedad de 27.76 % y 31.57 % respectivamente, podemos corroborar el resultado obtenido.

4.2. PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN

TABLA N° 13: PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)

PESO INICIAL	PESO FINAL	PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN
100 g	12.89 g	12.89 %

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a datos experimentales del estudio

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

La determinación del porcentaje de extracción es importante porque nos permite determinar la cantidad de muestra necesaria para la realización de diferentes pruebas del trabajo de investigación.

La tabla N°13 nos muestra el porcentaje (%) de extracción de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) con etanol al 70° hasta agotamiento, dándonos como resultado 12.89 % lo que indica que se requiere mayor cantidad de materia prima para las pruebas de solubilidad, pruebas fitoquímicas cualitativas y elaboración de formas farmacéuticas.

La extracción de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) se realizó por maceración con etanol al 70%, debido a que el etanol tiene una polaridad intermedia, es decir, extrae metabolitos polares y apolares. El agua, por su parte, obtiene los metabolitos más hidrosolubles, debido a su eminente polaridad, esta es idónea para extraerlos en sus formas ionizadas o extrae aquellos polifenoles que presentan elevadas polaridades. (70)

Los porcentajes de rendimiento de las plantas son muy variables y dependen mucho de su disposición, ubicación de desarrollo, de la parte de la planta en investigación (raíz, hoja, tallo, fruto, entre otros), así como del tipo y condiciones de extracción; es por ello que las comparaciones entre otras especies de plantas se tornan difíciles (71), e incluso dentro de la misma especie, esto se corroboró con los estudios realizados por Huancahuire (22) que obtuvo un porcentaje de 8.5 a comparación de nuestros resultados que fue mayor 12.5% y Sarmiento (24) que obtuvo un 15.77% a comparación con nuestro extracto que fue menor, sin embargo, no hay gran diferencia entre estos estudios.

4.3. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Los resultados obtenidos tras realizar las pruebas de solubilidad se exponen en la siguiente tabla:

TABLA N° 14: SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)

Solvente	Solubilidad
Agua destilada	++-
Metanol	++-
Etanol 40%	+--
Etanol 70%	+++
Etanol 90%	+++
Acetona	+++
Acetato de etilo	+ - -
Eter etílico	+--
Cloroformo	+--
Hexano	+--
Eter de petróleo	---
Benceno	---

Fuente: Lock O. Análisis fitoquímico (72)

Donde:

- ✓ Muy soluble (solubilidad total) : +++
- ✓ Soluble (solubilidad parcial) : ++-
- ✓ Poco soluble (formación de precipitados) : +--
- ✓ Insoluble : ---

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

La tabla N° 14 nos expone los resultados de solubilidad del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) frente a diferentes solventes de polaridad descendente. El extracto es muy soluble en etanol 70 %, etanol 90% y acetona (solventes parcialmente polares); soluble en metanol y agua (solventes polares); poco soluble en etanol 40 % y acetato de etilo (solventes parcialmente polares); e insoluble en éter etílico, cloroformo, hexano, éter de petróleo y benceno (solventes apolares).

De estos resultados obtenidos, se deduce que el extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) posee una naturaleza parcialmente polar por ser soluble en solventes de polaridad intermedia (etanol 70 %, etanol 90% y acetona)

Estos resultados se corroboraron con los estudios realizados por Huancahuire C. y Sarmiento J. de la misma especie (*Acaulimalva engleriana*) (22) (24).

4.4. PRUEBA FITOQUÍMICA CUALITATIVA

TABLA N° 15: PRUEBA FITOQUÍMICA CUALITATIVA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)

METABOLITO SECUNDARIO	REACTIVO	REACCIÓN	RESULTADOS
Azúcares reductores	Fehling	Coloración rojo ladrillo	++-
Glicósidos	Fehling	Coloración rojo-ladrillo	++-
Aminoácidos	Ninhidrina	Coloración rojiza violetas o amarillas	---
Flavonoides	Shinoda	Coloración rojiza, tendiente a amarillo o azulado	++-
Compuestos Fenólicos	Cloruro férrico	Coloración azul-verdoso	++-
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado naranja-marron	+++
	Mayer	Precipitado blanco	+++
Taninos	Gelatina 1%	Precipitado blanco	+--
	Cloruro férrico	Precipitado azul-verde oscuro	++-
Saponinas	Prueba de espuma	Formación de espuma persistente	+--
Cumarinas	Baljet	Coloración rojiza	---
Esteroides	Lieberman-Burchard	Coloración verde-azulada	++-
Quinonas	KOH 10%	Coloración rojizas	+++
Resinas	Acetato de cobre 1%	Coloración verde esmeralda	---
Lactonas Sesquiterpénicas	Baljet	Coloración naranja-rojo	++-

Fuente: Lock O. Investigación fitoquímica (72)

Donde:

- ✓ Abundante cantidad (reacción muy evidente) : +++
- ✓ Moderada cantidad (reacción evidente) : ++-
- ✓ Escasa cantidad (reacción poco evidente) : +--
- ✓ Ausente (no hubo reacción) : ---

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

Los metabolitos secundarios son sustancias orgánicas que se hallan en las plantas, los cuales no poseen un rol preciso en los métodos de respiración, transporte y asimilación, a oposición de los metabolitos primarios como las proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos. Además, no todos los metabolitos secundarios se hallan en todas las plantas, se resumen en pequeñas cantidades a partir del metabolismo primario y no de modo generalizado, quedando a menudo su producción exclusiva a un género concreto de plantas, familia o inclusive algunas especies (71).

Los resultados de la prueba fitoquímica cualitativa del extracto etanólico al 70 % de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) indican la abundante cantidad (+++), moderada cantidad (++-), escasa cantidad (+--) y ausente (---) de los metabolitos secundarios: azúcares reductores, glicósidos, flavonoides, aminoácidos, alcaloides, compuestos fenólicos, saponinas, taninos, cumarinas, esteroides, quinonas, resinas y lactonas sesquiterpénicas; y están reportados en la tabla N° 15.

Dentro de las pruebas colorimétricas se observaron alcaloides y quinonas en abundante cantidad; azúcares reductores, glicósidos, flavonoides, compuestos fenólicos y esteroides en moderada cantidad; taninos y saponinas en escasa cantidad; y ausencia de aminoácidos y cumarinas.

A los compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides se les han atribuido infinidad de propiedades, entre ellas antioxidantes, antimalaria, antiinflamatorios, antimicrobianos, entre otros (71). Por ello, se deduce que el extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) presenta efecto

antiinflamatorio debido a la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides.

Estudios realizados por Huaman J., Kuncho M., Nuñez M., para evaluar el efecto antiinflamatorio coincidieron en que los metabolitos secundarios que abundaban en sus plantas de estudio fueron flavonoides, compuestos fenólicos y taninos. (21) (73)

Otros estudios realizados por Huancahuire C. y Sarmiento J. de la misma especie (*Acaulimalva engleriana*) indicaron que la planta presenta abundantes flavonoides, compuestos fenólicos y taninos quienes serían responsables del efecto antimicótico y cicatrizante que evaluaron en sus investigaciones respectivamente (22) (24).

4.5. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA EFECTIVA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (Altea)

4.5.1. Formación de edema de los grupos experimentales

TABLA N° 16: FORMACIÓN DE EDEMA DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES, PESOS DE LAS OREJAS TRATADAS Y NO TRATADAS

GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN			Peso Oreja Tratada (mg)	Peso Oreja No Tratada (mg)	Formación de edema Ed= Pt-Pnt	PROMEDIO FORMACIÓN DE EDEMA
G1	CONTROL	R1	7.0	4.1	2.9	3.74
		R2	7.5	4.2	3.3	
		R3	8.0	3.8	4.2	
		R4	7.2	3.1	4.1	
		R5	7.8	3.6	4.2	
G2	EXTRACTO 2.5%	R1	4.3	3.1	1.2	1.02
		R2	4.8	4.4	0.4	
		R3	4.7	3.6	1.1	
		R4	4.2	3.0	1.2	
		R5	4.6	3.4	1.2	
G3	EXTRACTO 5%	R1	4.7	3.6	1.1	0.72
		R2	3.8	3.2	0.6	
		R3	4.3	3.8	0.5	
		R4	4.6	4.0	0.6	
		R5	4.7	3.9	0.8	
G4	EXTRACTO 10%	R1	4.6	3.7	0.9	0.86
		R2	4.8	4.0	0.8	
		R3	4.8	3.8	1.0	
		R4	4.7	4.1	0.6	
		R5	4.9	3.9	1.0	
G5	ESTANDAR (Gel de Diclofenaco 1%)	R1	4.1	4.0	0.1	0.24
		R2	4.4	4.1	0.3	
		R3	4.1	3.8	0.3	
		R4	4.2	3.9	0.3	
		R5	3.8	3.6	0.2	



FIGURA N° 9: GRÁFICO DE BARRAS DE LA FORMACIÓN DE EDEMA DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a datos experimentales del estudio

En la tabla N°16 se muestra los resultados de los pesos obtenidos experimentalmente de las orejas de ratón (mg) mediante el método del edema auricular inducido por aceite de croton, así como también la formación por los edemas de cada grupo de experimentación.

En la figura N°9 se observa que el edema máximo se da en el grupo 1 (control) correspondiente al aceite de croton con un valor promedio de edematización de 3.74 lo que demuestra la acción irritante del aceite de croton el cual provoca un edema agudo al aumentar la permeabilidad vascular, así como, la infiltración leucocitaria en la oreja derecha de los animales de experimentación. (74)

El edema mínimo se da en el grupo 5 (estándar) correspondiente al Diclofenaco con un valor promedio de edematización de 0.24, lo cual corrobora la acción antiinflamatoria del fármaco al ser parte del grupo de los AINES (48).

El extracto etanólico al 5% presentó un valor promedio de edematización de 0.72, seguido del extracto etanólico al 10% con un valor promedio de edematización de 0.86, y por último el extracto etanólico al 2.5% con un valor promedio de edematización de 1.02. Esto nos muestra que el extracto etanólico de raíces de *Acaulimalva engleriana* presenta actividad antiinflamatoria.

4.5.2. Análisis descriptivo de la formación de edema

TABLA N° 17: RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE LA FORMACIÓN DE EDEMA

FORMACIÓN DE EDEMA					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
Control	5	2,90	4,20	3,7380	0,601
Extracto 2,5%	5	0,40	1,20	1,0200	0,349
Extracto 5%	5	0,50	1,10	0,7200	0,238
Extracto 10%	5	0,60	1,00	0,8600	0,167
Estándar (Diclofenaco)	5	0,10	0,30	0,2400	0,089
Total	25	0,10	4,20	1,3156	1,301

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a datos experimentales y estadísticos del estudio

En la tabla N° 17 se exponen los resultados estadísticos de la formación por edema obtenidos a partir por los datos de la parte experimental de los pesos de las orejas tratadas, así como, no tratadas.

Se observa que la máxima desviación estándar corresponde al grupo control con un valor de 0.601, lo cual nos indica una mayor amplitud en la dispersión de los valores obtenidos de las medias.

4.5.3. Pruebas de ANOVA y TUKEY para la determinación de la concentración mínima efectiva del extracto etanólico al 70 % de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea)

TABLA N° 18: PRUEBA DE ANOVA PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA EFECTIVA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)

ANOVA					
Disminución de peso					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	38,373	4	9,593	83,243	0,000
Dentro de grupos	2,305	20	0,115		
Total	40,678	24			

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a datos estadísticos del estudio

TABLA N° 19: PRUEBA DE TUKEY PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA EFECTIVA DEL EXTRACTO DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)

PRUEBA DE TUKEY					
	Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD Tukey ^a	Estándar (Diclofenaco)	5	0,2400		
	Extracto 5%	5	0,7200	0,7200	
	Extracto 10%	5	0,8600	0,8600	
	Extracto 2,5%	5		1,0200	
	Control	5			3,7380
	Sig.		0,062	0,636	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.					
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5.000.					

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a datos estadísticos del estudio

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

En la tabla N° 18 se aprecia los resultados del análisis de varianza de un factor ANOVA, con un grado de confianza del 95% a fin de comparar si las diferentes concentraciones del extracto etanólico al 70 % de raíces de *Acaulimalva*

engleriana (Altea) aplicados a los grupos de experimentación, difieren en la formación de edema.

Según el análisis estadístico se obtuvo $F=83,243$, con un nivel de significancia de 0.000; como este valor es mucho menor a 0.05 se rechaza la hipótesis nula o de igualdad de medias y concluimos que, existe diferencia altamente significativa entre la formación de edemas de los grupos después de aplicar los diferentes tratamientos (Estándar y concentraciones de extracto etanólico de raíces de *Acaulimalva engleriana*).

En la tabla N° 19 se aprecia los resultados de la prueba de Tukey, prueba posterior al ANOVA, que nos permite detectar las diferencias estadísticamente significativas que detectó de forma global el ANOVA y agruparlos en subconjuntos homogéneos (75). Según esta prueba se hallaron 3 subconjuntos homogéneos: el grupo control, el extracto 5% y el extracto 10% es el primero y nos indica que las medias de estos grupos no difieren de forma estadísticamente significativa hallándose así en la misma columna. Lo mismo ocurre con el subconjunto 2: extracto 5%, extracto 10% y extracto 2.5%.

Por el contrario, cuando dos medias difieren entre sí aparecen en un subconjunto diferente, es el caso del grupo control que difiere significativamente de los otros subconjuntos confirmándose de esta manera su mayor edematización al no estar sometido a ningún tratamiento como sí lo estuvieron con los extractos etanólicos a las diferentes concentraciones y el grupo patrón, esto se puede corroborar con el estudio realizado por Brito G, Frías A, et. (76) quien realizó 3 experimentos independientes usando aceite de crotón como control negativo confirmando su poder edematizante superior en los tres casos.

4.5.4. Porcentajes de inhibición de la inflamación de los grupos experimentales

Para determinar el porcentaje de inhibición de la inflamación se siguió la siguiente fórmula: (29)

$$\%Inh = \frac{(Pt - Pnt)_{control} - (Pt - Pnt)_{tratado}}{(Pt - Pnt)_{control}} \times 100$$

Donde:

Pt = Es el peso de la sección de la oreja tratada

Pnt = Es el peso de la sección de la oreja no tratada

(Pt – Pnt) control: es el valor promedio de edema obtenido del grupo control

(Pt – Pnt) tratado: es el valor de edema derivado de los grupos problema y grupo patrón

TABLA N° 20: PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN			Peso Oreja Tratada (mg)	Peso Oreja No Tratada (mg)	Formación de edema Ed= Pt-Pnt		Porcentaje de Inhibición de la Inflamación (%)	PROMEDIO DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACION (%)
G1	CONTROL	R1	7.0	4.1	2.9	3.74	-----	-----
		R2	7.5	4.2	3.3			
		R3	8.0	3.8	4.2			
		R4	7.2	3.1	4.1			
		R5	7.8	3.6	4.2			
G2	EXTRACTO 2.5%	R1	4.3	3.1	1.2			72.73
		R2	4.8	4.4	0.4		67.91	
		R3	4.7	3.6	1.1		70.59	
		R4	4.2	3.0	1.2		67.91	
		R5	4.6	3.4	1.2		67.91	
G3	EXTRACTO 5%	R1	4.7	3.6	1.1		70.59	80.75
		R2	3.8	3.2	0.6		83.96	
		R3	4.3	3.8	0.5		86.63	
		R4	4.6	4.0	0.6		83.96	
		R5	4.7	3.9	0.8		78.61	
G4	EXTRACTO 10%	R1	4.6	3.7	0.9		75.94	77.01
		R2	4.8	4.0	0.8		78.61	
		R3	4.8	3.8	1.0		73.26	
		R4	4.7	4.1	0.6		83.96	
		R5	4.9	3.9	1.0		73.26	
G5	ESTANDAR (Gel de Diclofenaco 1%)	R1	4.1	4.0	0.1		97.33	93.58
		R2	4.4	4.1	0.3		91.98	
		R3	4.1	3.8	0.3		91.98	
		R4	4.2	3.9	0.3		91.98	
		R5	3.8	3.6	0.2		94.65	

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a resultados experimentales



FIGURA N° 10: GRÁFICO DE BARRAS DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 20 se muestra los resultados de los porcentajes de inhibición de la inflamación por los grupos experimentales hallados mediante el método del edema auricular inducido por aceite de croton utilizando los datos de la formación de edema de los grupos experimentales mostrados en la tabla N°16.

Se observa que el extracto al 2.5 % presenta un % de inhibición de la inflamación de 72.73 %, el extracto al 5% un porcentaje de 80.75%, el extracto al 10% un porcentaje de 77.01% y el grupo estándar un % de inhibición de la inflamación de 93.58%. Se observa que el extracto al 5% es el que presenta el mayor efecto antiinflamatorio respecto a las otras dos concentraciones mas no respecto al fármaco de referencia. Si bien se esperaría una mayor eficacia farmacológica al aumentar la concentración de un principio activo, los resultados de nuestra investigación indican más bien una respuesta dosis-dependiente no lineal, ya que la formulación a un 5% de concentración mostró una actividad antiinflamatoria mejor que la 10%. Esto podría deberse a que ciertos

compuestos del extracto, logran mejor actividad farmacológica a un nivel de concentración determinado, más allá del cual pueden ser inactivados (77).

Esta respuesta, llamada también curva en forma de campana, es común en extractos naturales, donde debido a su complejidad química y a la interacción entre sus componentes pueden generar el efecto óptimo solo dentro de un intervalo terapéutico limitado. Por tanto, al aumentar la concentración no siempre habrá mejora del efecto, sino incluso puede reducirse la actividad biológica esperada (77).

En un estudio realizado por Onofre L (2024) en el que se evaluó el efecto antiinflamatorio de 2 extractos etanólicos (*Rosmarinus officinales* y *Taxodium huegelii*) a concentraciones de 10, 56.2, 100, 316.2, 562.3 y 1000 mg/kg, se demostró que las concentraciones intermedias de 100 y 316.2 mg/kg presentaron mejor efecto antiinflamatorio, y que al probar la dosis de 1000mg/kg en ambos extractos el efecto decae (78).

4.5.5. Prueba de ANOVA para la determinación de la concentración mínima efectiva del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea)

TABLA N° 21: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

ANOVA					
Porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
Extracto 2,5%	5	58,62	87,88	72,4800	10,43364
Extracto 5%	5	62,07	88,10	77,7500	10,80450
Extracto 10%	5	68,96	85,33	76,4860	5,82150
Estándar (Diclofenaco)	5	90,91	96,55	93,6460	2,23775
Total	20	58,62	96,55	80,0905	11,14188
					Sig=0.004

Fuente: Elaboración propia en base a datos estadísticos

ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la tabla N° 21 se exponen los resultados de la prueba de ANOVA, con un nivel de confianza del 95%, los cuales se obtuvieron a partir de los datos de la parte experimental de la formación de edema (Tabla N°16).

Se observa que la máxima desviación estándar corresponde al extracto 2.5% con un valor de 10.43, el cual nos indica una mayor dispersión de los valores obtenidos de las medias. Por el contrario, el grupo Estándar presenta la mínima desviación estándar con un valor de 2.24 lo que nos indica que existe una mínima dispersión de datos con respecto a la media.

Según el análisis estadístico se consiguió un nivel de significancia de 0.004; como este valor es mucho menor a 0.05 se rechaza la hipótesis nula o de igualdad de medias y concluimos que, existe diferencia altamente significativa entre los porcentajes de inhibición de la inflamación de los conjuntos después de aplicar los diferentes tratamientos (Estándar y concentraciones de extracto etanólico de raíces de *Acaulimalva engleriana*), es decir, que por lo menos un grupo difiere de los otros grupos en cuanto a su porcentaje de inhibición de la inflamación y por tanto en su eficacia antiinflamatoria.

4.5.6. Prueba de Tukey para la determinación de la concentración mínima efectiva del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea)

TABLA N° 22: PRUEBA DE TUKEY PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA EFECTIVA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)

Porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto				
	Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
HSD Tukey ^a	Extracto 2,5%	5	72,7273	
	Extracto 10%	5	77.0053	
	Extracto 5%	5	80.7487	
	Estándar (Diclofenaco)	5		93,5829
	Sig.		0.738	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				

Fuente: Elaboración propia en base a datos estadísticos

En la tabla N°22 se aprecia los resultados de la prueba de Tukey, prueba posterior al ANOVA, que nos permite detectar las diferencias estadísticamente significativas que detectó de forma global el ANOVA y agruparlos en subconjuntos homogéneos (75). Según esta prueba se hallaron 2 subconjuntos homogéneos: el extracto 2.5%, el extracto 5% y el extracto 10% es el primero y nos indica que las medias de estos grupos no difieren de forma estadísticamente significativa hallándose así en la misma columna e informándonos que las tres concentraciones presentan similar efecto antiinflamatorio. Por el contrario, cuando dos medias difieren entre sí aparecen en un subconjunto diferente, es el caso del grupo control quien difiere significativamente del primer subconjunto confirmándose de esta manera su mayor eficacia antiinflamatoria frente a los extractos.

4.6. DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD DÉRMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70 % DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (Altea)

TABLA N° 23: ENSAYO DE IRRITACIÓN DÉRMICA AGUDA EN COBAYOS ALBINOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA) - CONCENTRACIÓN DE 10%

		FORMACIÓN DE ERITEMA				FORMACIÓN DE EDEMA				Observaciones	Irritación primaria
N° de cobayo		TIEMPO EN HORAS				TIEMPO EN HORAS					
		1h	24h	48h	72h	1h	24h	48h	72h		PPI
1	Extracto	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	0
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	
2	Extracto	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	0
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	
3	Extracto	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	0
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	
Índice de Irritación Primaria (PPI)											0.0

Fuente: Datos experimentales del estudio

TABLA N° 24: ENSAYO DE IRRITACIÓN DÉRMICA AGUDA EN COBAYOS ALBINOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA) - CONCENTRACIÓN DE 20%

		FORMACIÓN DE ERITEMA				FORMACIÓN DE EDEMA				Observaciones	Irritación primaria
N°de cobayo		TIEMPO EN HORAS				TIEMPO EN HORAS					
		1h	24h	48h	72h	1h	24h	48h	72h		PPI
1	Extracto	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	0
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	
2	Extracto	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	0
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	
3	Extracto	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	0
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	
Índice de Irritación Primaria (PPI)											0.0

Fuente: Datos experimentales del estudio

TABLA N° 25: ENSAYO DE IRRITACIÓN DÉRMICA AGUDA EN COBAYOS ALBINOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA) - CONCENTRACIÓN DE 30 %

		FORMACIÓN DE ERITEMA				FORMACIÓN DE EDEMA				Observaciones	Irritación primaria
N° de cobayo		TIEMPO EN HORAS				TIEMPO EN HORAS					
		1h	24h	48h	72h	1h	24h	48h	72h		SPI
1	Extracto	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	0
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	
2	Extracto	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	0
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	
3	Extracto	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	0
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0/4	
Índice de Irritación Primaria (PPI)											0.0

Fuente: Datos experimentales del estudio

TABLA N° 26: DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE IRRITACIÓN PRIMARIA (IIP) MEDIANTE EL TEST DE DRAIZE

CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO (%)	ÍNDICE DE IRRITACIÓN PRIMARIA (IIP)	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
10	0.0	Se aprueba (No irritante)
20	0.0	Se aprueba (No irritante)
30	0.0	Se aprueba (No irritante)

Fuente: Datos experimentales del estudio

En las tablas N°23,24 y 25 se muestran los ensayos por irritación primaria que se realizaron con el extracto etanólico al 70% de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) a las concentraciones de 10, 20 y 30 % respectivamente. Para cada grupo se realizaron observaciones de formación de eritema y/o edema a 4 tiempos 1h, 24h, 48h y 72h, obteniendo un Índice de Irritación Primaria (PII) de 0.0 en todos los grupos, es decir que en las 72 horas de observación no se evidenció formación alguna ni de eritema ni de edema en los tres grupos de evaluación.

En la tabla N°26 se muestra el índice de irritación primaria del extracto etanólico de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) a las concentraciones de 10, 20 y 30 %. De acuerdo con estos resultados y siguiendo el criterio de aprobación del test de Draize, el extracto etanólico al 70% de las raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) se considera una sustancia no irritante por presentar un Índice de Irritación Primaria de 0.0 en los tres casos.

Estos resultados se corroboraron con los estudios realizados por Huancahuire C. (22) y Sarmiento J. (24) de la misma especie (*Acaulimalva engleriana*).

4.7. PREFORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DEL GEL

TABLA N° 27: PREFORMULACIONES Y FORMULACIÓN DEL GEL

FORMULACIÓN 1		RESULTADOS
Carboximetilcelulosa	0.6g	No conforme: Se formó un gel con mucha presencia de grumos. Sin ser útil para la aplicación tópica.
Metilparabeno	0.012 g	
Propilparabeno	0.025g	
Glicerina	5ml	
Agua destilada	50ml	
FORMULACIÓN 2		RESULTADOS
Carboximetilcelulosa	0.6g	No conforme: Se formó un gel muy fluido nada adherente a la piel. Sin ser útil para la aplicación tópica.
Metilparabeno	0.05g	
Propilparabeno	0.025g	
Propilenglicol	2.5ml	
Trietanolamina	1 gota	
Etanol 70°	50ml	
FORMULACIÓN 3		RESULTADOS
Carboximetilcelulosa	0.7g	No conforme: Se formó un gel con presencia de pequeños grumos con una consistencia pegajosa. Sin ser útil para la aplicación tópica.
Metilparabeno	0.026g	
Propilparabeno	0.0125g	
Glicerina	2.5ml	
Agua destilada	50ml	

FORMULACIÓN 4		RESULTADOS
Carboximetilcelulosa	0.5g	No conforme: Se formó un gel de baja consistencia. Sin ser útil para la aplicación tópica.
Metilparabeno	0.0125g	
Propilparabeno	0.025g	
Glicerina	2.5ml	
Agua destilada	50ml	
FORMULACIÓN 5		RESULTADOS
Carboximetilcelulosa	0.5g	No conforme: Se formó un gel con una consistencia ligeramente pegajosa, Sin ser útil para la aplicación tópica.
Metilparabeno	0.025g	
Propilparabeno	0.025g	
Glicerina	2.5ml	
Agua destilada	50ml	
FORMULACIÓN 6		RESULTADOS
Carboximetilcelulosa	1g	Conforme: Se formó un gel homogéneo de buena consistencia nada pegajosa, fácil de aplicar a la piel.
Metilparabeno	0.025g	
Propilparabeno	0.05g	
Glicerina	5ml	
Agua destilada	50ml	

Fuente: Elaboración propia

La tabla N°27 nos expone seis diferentes pre-formulaciones de gel. Se observa que las pre-formulaciones N°1,2,3,4 y 5 dieron resultados no conformes debido a que presentaban características no propias a la forma farmacéutica deseada como consistencia muy pegajosa, o no formación de gel, entre otros. Mientras que la pre-formulación N°6 presentó las características propias de un gel, de buena consistencia, color, olor, sensación al tacto, además que al incorporar el extracto etanólico la pre-formulación no alteró sus características lo que nos dio un resultado favorable.

4.8. PREFORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DEL PARCHÉ TRANSDÉRMICO

TABLA N° 28: PREFORMULACIÓN Y FORMULACIÓN DE LOS PARCHES TRANSDÉRMICOS

FORMULACIÓN 1		RESULTADOS
Carboximetilcelulosa	2g	No conforme: Se formó un parche no uniforme demasiado pegajoso con presencia de grumos y burbujas. Sin ser útil para la aplicación tópica.
Carbopol	1g	
Glicerina	4ml	
Ácido oleico	2.5ml	
Alcohol	30ml	
Agua destilada	70ml	
FORMULACIÓN 2		RESULTADOS
Carboximetilcelulosa	2g	No conforme: Se formó un parche no uniforme con presencia de burbujas con una resistencia débil y frágil. Sin ser útil para la aplicación tópica.
Carbopol	0.5g	
Glicerina	4ml	
Dimetilsulfoxido	2.5ml	
Alcohol	30ml	
Agua destilada	70ml	
FORMULACIÓN 3		RESULTADOS
Carbopol	1g	No conforme: Se formó un parche no uniforme con una consistencia muy dura con presencia de burbujas. Sin ser útil para la aplicación tópica.
Glicerina	2ml	
PVA	2.5g	
Agua destilada	30ml	
Etanol	13.5ml	
FORMULACIÓN 4		RESULTADOS
Carbopol	0.5g	No conforme: Se formó un parche no uniforme con presencia de grumos, burbujas con una consistencia semirígida. Sin ser útil para la aplicación tópica.
Glicerina	2ml	
PVA	3.5	
Etanol	15ml	
Agua destilada	30ml	
FORMULACIÓN 5		RESULTADOS
Carboximetilcelulosa	2g	No conforme: Se formó un parche uniforme con una consistencia semirígida poco adhesiva a la piel. Sin ser útil para aplicación tópica.
Carbopol	2g	
Glicerina	3ml	
Ácido oleico	2.5ml	
Agua destilada	30ml	
FORMULACIÓN 6		RESULTADOS
Carboximetilcelulosa	3g	Conforme: Se formó un parche uniforme sin presencia de grumos, burbujas con una consistencia flexible y adherente a la piel muy útil para la aplicación tópica.
Carbopol	1g	
Glicerina	4ml	
Agua destilada	30ml	
Alcohol	15ml	
Ácido oleico	2.5ml	

Fuente: Elaboración propia

La tabla N°28 nos exhibe seis diferentes pre-formulaciones de parche transdérmico. Se observa que las pre-formulaciones N°1,2,3,4 y 5 dieron resultados no conformes debido a que presentaban características no propias a la forma farmacéutica deseada como la presencia de burbujas, grumos, consistencia rígida o semirrígida, entre otros. Mientras que la pre-formulación N°6 presentó mejores características de consistencia, elasticidad y mejor adherencia a la piel, además que al incorporar el extracto etanólico la pre-formulación no alteró sus características lo que nos dio un resultado favorable.

4.9. CONTROL DE CALIDAD DE LAS DOS FORMAS FARMACÉUTICAS ELABORADAS (GEL Y PARCHÉ TRANSDÉRMICO)

4.9.1. Control de Calidad del Gel Tópico

TABLA N° 29: CONTROL DE CALIDAD DE GEL TÓPICO AL 5%

Características organolépticas	Resultados				
Aspecto (Textura)	Homogénea – gelatinosa				
Color	Verde brillante característico del extracto				
Olor	Similar al extracto				
Sensación al tacto	Refrescante				
Consistencia	Semifluida				
Características fisicoquímicas/ reológicas	M1	M2	M3	Promedio	Parámetros (24) (20)
Ph	6.5	6.5	6.5	6.5	De 6 a 7
Densidad (g/ml)	0.884	0.809	0.87	0.854	< 1.01
Extensibilidad (mm ³)	3848.4	3853.7	3874.3	3858.8	De 3000 a 5000

Fuente: Elaboración propia en base a resultados del estudio

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tabla N°29 nos muestra los resultados de las pruebas organolépticas, fisicoquímicas y reológicas del gel elaborado y previamente aceptado en la preformulación.

El gel presentó un aspecto homogéneo de un color verde brillante y un olor característico al extracto vegetal de buena consistencia y que al aplicar sobre la piel tiene una sensación refrescante, lo cual se corroboró con el gel etanólico elaborado por Kuncho A (20). Es importante asegurarse de que la formulación sea estéticamente aceptable para el paciente y fácil de usar, además que una buena consistencia es necesaria para garantizar una adecuada aplicación y permanencia en el sitio de acción.

Para los parámetros fisicoquímicos se tomó como referencia los datos reportados por Sarmiento J. y Kuncho A, en los que indican las referencias que usaron en sus estudios basándose en estudios anteriores sobre formulación y controles de calidad de geles y cremas.

4.9.2. Control de Calidad del Parche transdérmico

4.9.2.1. Control de calidad fisicoquímico del parche transdérmico

TABLA N° 30: CONTROL DE CALIDAD DEL PARCHE TRANSDÉRMICO

Características fisicoquímicas	M1	M2	M3	Promedio
Grosor	12	13	12	12 mm
Variación de peso	15	17	18	17mg
Resistencia plegable	200	200	200	200

Fuente: Elaboración propia en base a resultados del estudio

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

LA tabla N°30 nos expone los resultados por las pruebas fisicoquímicas del parche transdérmico elaborado, mismas que se realizaron por triplicado. Las

características organolépticas como el olor, color, aspecto no fueron colocadas en el presente cuadro debido a que se evaluaron en la preformulación resultando la formulación 6 óptima y con buena compatibilidad de excipientes.

El grosor de los parches fue de 12mm observándose que no hubo dispersión de datos, es decir, los valores fueron muy próximos entre sí, lo que nos muestra una buena homogeneidad de los parches. Similar caso ocurrió en la variación del peso.

Respecto a la resistencia plegable, esta prueba se define como el número de dobleces que se requieren para hacer que una pieza de prueba se rompa en condiciones estandarizadas. En nuestras muestras, este número fue de 200. Es decir, se requirieron 200 dobleces para hacer que los parches se rompieran. Esto nos da una idea de la consistencia y rigidez de los parches, con un buen balance entre elástico y rígido.

4.9.2.2. Contenido de extracto

Pasadas las 12 horas de disolución del parche en la solución tampón fosfato a pH 7.4 se realizó el filtrado. Esta solución conteniendo la solución del extracto fue analizada usando el espectrofotómetro. Al no tener una longitud de onda establecida, se realizó una lectura de barrido entre 190 y 700 nm para determinar la máxima longitud de onda a la cual absorben los metabolitos presentes (flavonoides, quinonas) en la solución del extracto, como se observa en el gráfico N°15. Esta prueba nos ayudó a determinar a qué longitud de onda se encuentran los metabolitos de nuestro parche, determinando así la longitud de onda de 208 nm a la cual se realizaron posteriormente las lecturas en el estudio de liberación *in-vitro*.

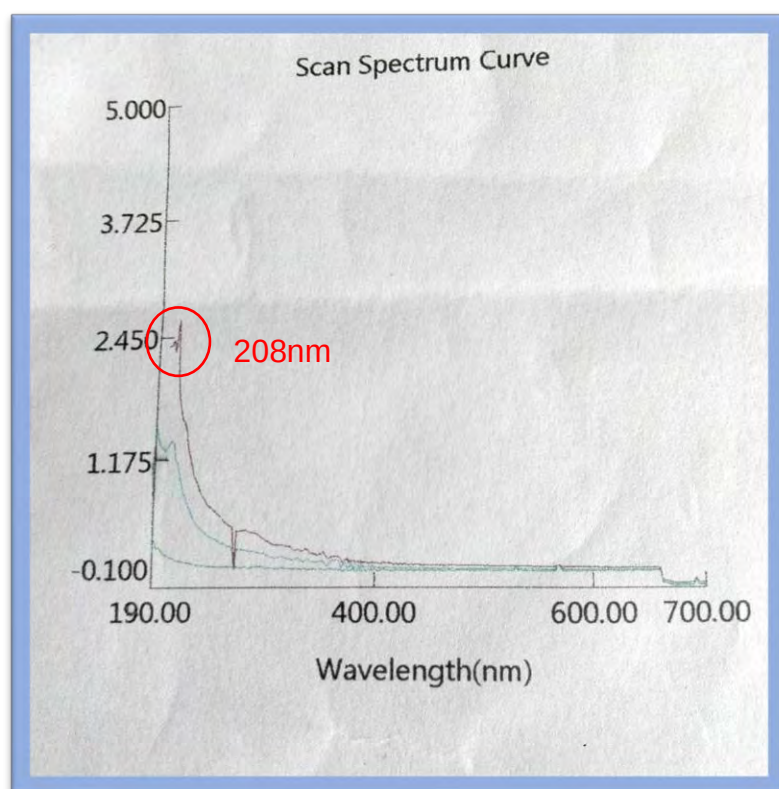


FIGURA N° 11: CURVA DE ESPECTRO CON LA MÁXIMA LONGITUD DE ONDA DE ABSORCIÓN DEL EXTRACTO CONTENIDO EN EL PARCHE TRANSDÉRMICO TRAS LA DISOLUCIÓN

4.9.2.3. Estudio de liberación *in-vitro* del parche transdérmico

TABLA N° 31: ABSORBANCIAS DE LAS MUESTRAS VS TIEMPO

TIEMPO	5min	10min	15min	30min	45min	1hra	2hras	4hras	6hras	8hras	10hras
MUESTRA 1	0.280	0.493	0.488	0.485	0.475	0.455	0.486	0.378	0.332	0.362	0.397
	0.281	0.492	0.488	0.485	0.475	0.455	0.486	0.378	0.332	0.361	0.396
	0.279	0.492	0.488	0.485	0.475	0.455	0.486	0.378	0.332	0.360	0.397
MUESTRA 2	0.271	0.402	0.362	0.328	0.377	0.434	0.461	0.464	0.463	0.507	0.482
	0.272	0.402	0.361	0.328	0.377	0.435	0.461	0.464	0.462	0.508	0.481
	0.270	0.401	0.361	0.329	0.378	0.434	0.461	0.464	0.463	0.507	0.482
MUESTRA 3	0.275	0.495	0.509	0.471	0.489	0.463	0.696	0.759	0.550	0.498	0.493
	0.275	0.495	0.509	0.471	0.489	0.463	0.684	0.751	0.550	0.497	0.491
	0.275	0.495	0.509	0.471	0.489	0.463	0.677	0.752	0.549	0.497	0.490
MUESTRA 4	0.280	0.548	0.533	0.480	0.481	0.496	0.438	0.510	0.462	0.512	0.492
	0.282	0.548	0.533	0.480	0.481	0.496	0.438	0.511	0.462	0.512	0.492
	0.282	0.548	0.533	0.480	0.481	0.496	0.438	0.512	0.463	0.512	0.493
MUESTRA 5	0.315	0.643	0.620	0.612	0.750	0.793	0.839	0.832	0.943	0.964	0.958
	0.315	0.643	0.619	0.612	0.749	0.792	0.839	0.832	0.943	0.964	0.957
	0.316	0.643	0.620	0.613	0.750	0.793	0.839	0.833	0.942	0.964	0.958
MUESTRA 6	0.285	0.624	0.677	0.661	0.733	0.755	0.802	0.908	0.922	0.942	0.911
	0.286	0.623	0.677	0.662	0.733	0.755	0.802	0.908	0.922	0.943	0.912
	0.285	0.624	0.677	0.662	0.734	0.755	0.801	0.907	0.922	0.942	0.912
MUESTRA 7	0.483	0.697	0.772	0.848	1.014	1.153	1.314	1.398	1.431	1.423	1.432
	0.483	0.694	0.772	0.848	1.014	1.154	1.314	1.399	1.432	1.422	1.432
	0.483	0.694	0.772	0.848	1.014	1.155	1.314	1.399	1.431	1.422	1.432
MUESTRA 8	0.467	0.708	0.782	0.862	0.962	1.086	1.298	1.380	1.445	1.464	1.430
	0.467	0.708	0.782	0.862	0.961	1.085	1.298	1.381	1.445	1.464	1.430
	0.467	0.708	0.782	0.862	0.962	1.085	1.298	1.381	1.446	1.464	1.430

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a datos experimentales

TABLA N° 32: PROMEDIO DE ABSORBANCIAS DE LAS MUESTRAS VS TIEMPO

TIEMPO	5min	10min	15min	30min	45min	1hra	2hras	4hras	6hras	8hras	10hras
Muestra 1	0.280	0.492	0.488	0.485	0.475	0.455	0.486	0.378	0.332	0.361	0.397
Muestra 2	0.271	0.402	0.361	0.328	0.377	0.434	0.461	0.464	0.463	0.507	0.482
Muestra 3	0.275	0.495	0.509	0.471	0.489	0.463	0.686	0.754	0.550	0.497	0.491
Muestra 4	0.281	0.548	0.533	0.480	0.481	0.496	0.438	0.511	0.462	0.512	0.492
Muestra 5	0.315	0.643	0.620	0.612	0.750	0.793	0.839	0.832	0.943	0.964	0.958
Muestra 6	0.285	0.624	0.677	0.662	0.733	0.755	0.802	0.908	0.922	0.942	0.912
Muestra 7	0.483	0.695	0.772	0.848	1.014	1.154	1.314	1.399	1.431	1.422	1.432
Muestra 8	0.467	0.708	0.782	0.862	0.962	1.085	1.298	1.381	1.445	1.464	1.430

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a datos experimentales

La tabla N°31 nos muestra los resultados detallados por las absorbancias de las diferentes muestras a lo largo del tiempo. Siendo la muestra 1 el blanco, muestra 2 el parche de diclofenaco, muestras 3 y 4 el parche a 2.5%, muestras 5 y 6 el parche al 5% y muestras 7 y 8 el parche al 10%. En la tabla N°32 se observa un cuadro resumen de los datos del cuadro N°31 con los promedios de las absorbancias. Los tiempos de análisis se realizaron a los 5, 10, 15, 30, 45 minutos, así como también 1, 2, 4, 6, 8, 10 horas.

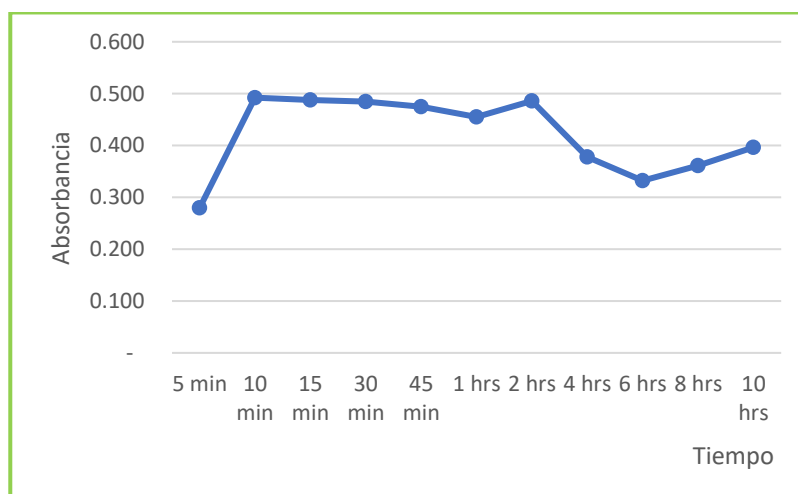


FIGURA N° 12: ABSORBANCIAS DEL BLANCO

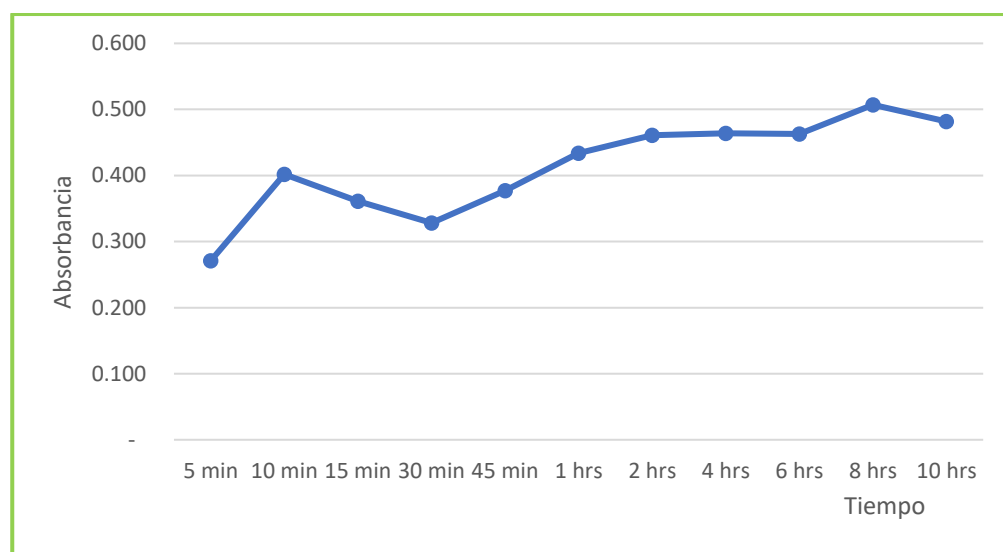


FIGURA N° 13: ABSORBANCIAS DEL PARCHES DE DICLOFENACO

Fuente: Elaboración propia

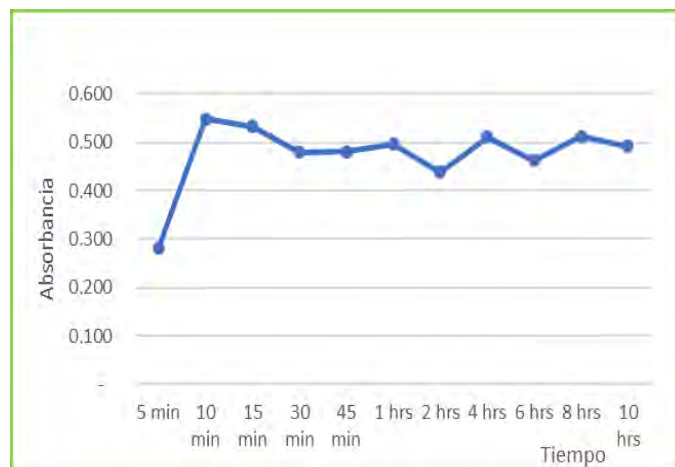
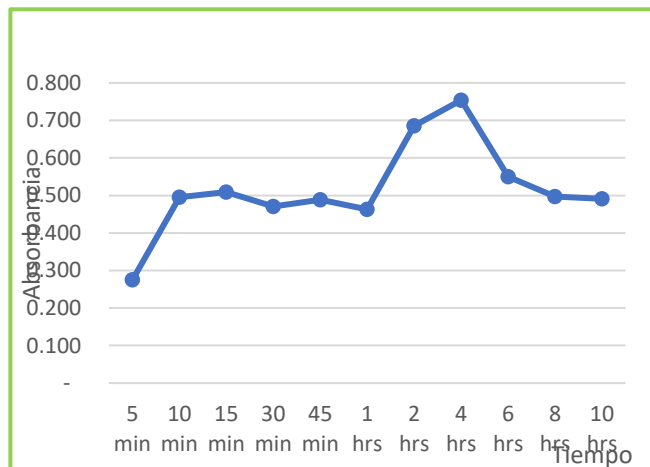


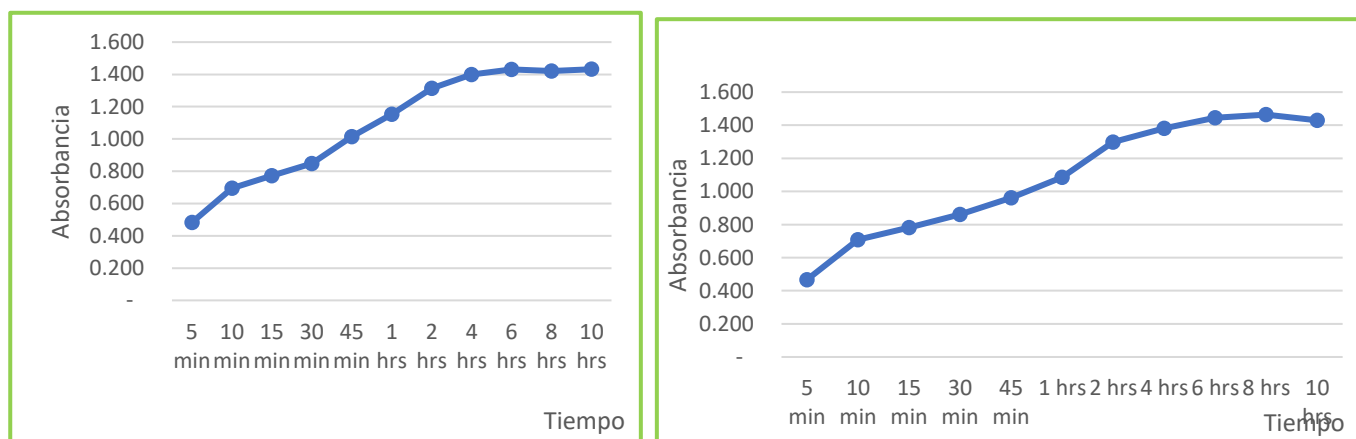
FIGURA N° 14: CURVAS DE CONCENTRACIÓN VS TIEMPO DEL PARCHES AL 2.5% MUESTRAS A Y B

Fuente: Elaboración propia



**FIGURA N° 15: CURVAS DE CONCENTRACIÓN VS TIEMPO DEL PARCHÉ AL 5%
MUESTRAS A Y B**

Fuente: Elaboración propia



**FIGURA N° 16: CURVAS DE CONCENTRACIÓN VS TIEMPO DEL PARCHÉ AL 10%
MUESTRAS A Y B**

Fuente: Elaboración propia

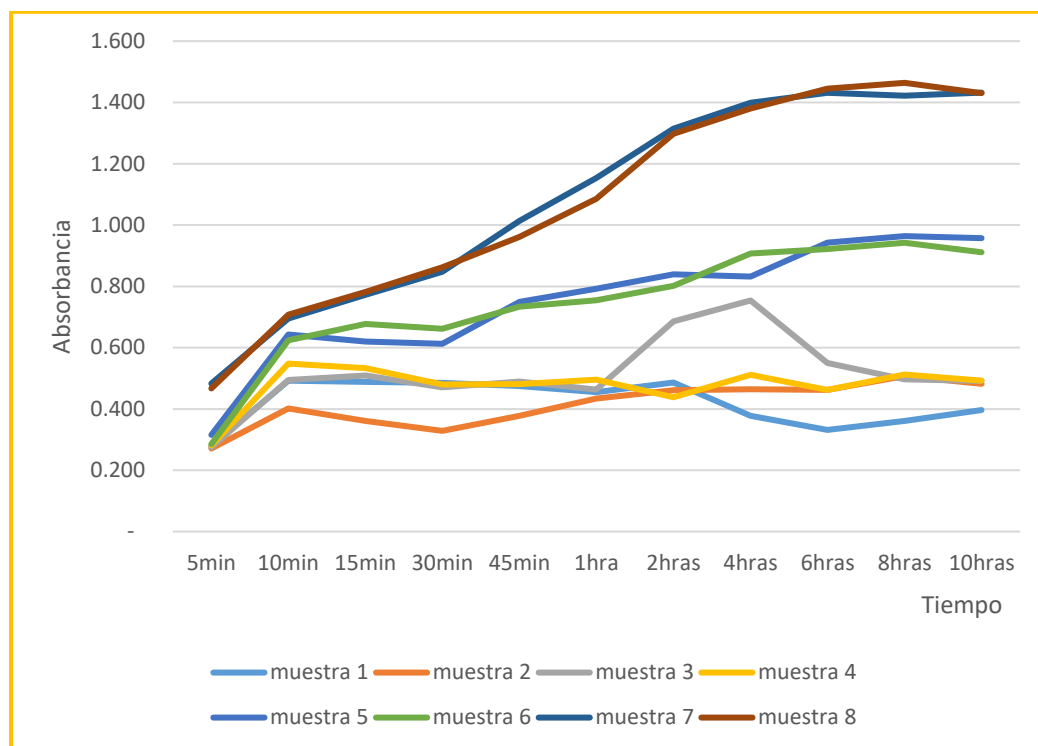


FIGURA N° 17: PERFIL DE DISOLUCIÓN VS TIEMPO DE LAS MUESTRAS

Fuente: Elaboración propia en base a resultados experimentales

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La figura N° 18 nos muestra los perfiles de disolución de las muestras en el transcurso del tiempo, siendo la muestra 1 el blanco, muestra 2 el parche de diclofenaco, muestras 3 y 4 el parche a 2.5%, muestras 5 y 6 el parche al 5% y muestras 7 y 8 el parche al 10%. Los tiempos de análisis se realizaron a los 5, 10, 15, 30, 45 minutos, así como también 1, 2, 4, 6, 8, 10 horas. Se observa que ya hay liberación del fármaco desde los 5 minutos acentuándose a los 10 minutos para todas las muestras. Tanto el blanco como el diclofenaco (muestra 1 y 2 respectivamente) presenta muy bajos valores entendiendo así que no presentan compuestos similares al extracto ya que el blanco solo cuenta con los excipientes y el parche de diclofenaco es visible en el espectrofotómetro UV en el rango de 250nm para arriba. De similar manera la muestra 3 y 4 que contiene el parche al 2.5%, presenta bajos valores en su perfil de disolución siendo el minuto 10 donde se libera casi el máximo del extracto.

4.10. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTINFLAMATORIO DE LAS DOS FORMAS FARMACÉUTICAS ELABORADAS (GEL Y PARCHE TRANSDÉRMICO)

4.10.1. Formación de edema de los grupos experimentales

TABLA N° 33: FORMACIÓN DE EDEMA DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES, PESOS DE LAS OREJAS TRATADAS Y NO TRATADAS.

GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN			Peso Oreja Tratada (mg)	Peso Oreja No Tratada (mg)	Formación de edema	PROMEDIO FORMACIÓN DE EDEMA
G1	CONTROL (GEL SIN EXTRACTO)	R1	7.6	4.0	3.6	3.62
		R2	7.8	4.2	3.6	
		R3	8.2	4.5	3.7	
		R4	7.4	3.8	3.6	
		R5	7.9	4.3	3.6	
G2	GEL 5%	R1	4.1	3.7	0.4	0.36
		R2	4.4	4.0	0.4	
		R3	4.2	3.9	0.3	
		R4	4.0	3.6	0.4	
		R5	4.5	4.2	0.3	
G3	ESTÁNDAR (Gel de diclofenaco 1%)	R1	4.2	3.9	0.3	0.30
		R2	4.3	4.0	0.3	
		R3	3.9	3.7	0.2	
		R4	4.4	4.1	0.3	
		R5	4.1	3.7	0.4	
G4	CONTROL (PARCHE SIN EXTRACTO)	R1	6.7	3.1	3.6	4.30
		R2	8.4	4.4	4.0	
		R3	9.0	3.6	5.4	
		R4	8.1	3.2	4.9	
		R5	7.0	3.4	3.6	
G5	PARCHE (EXTRACTO AL 5%)	R1	7.5	4.1	3.4	3.40
		R2	7.1	3.8	3.3	
		R3	7.0	3.4	3.6	
		R4	7.8	4.2	3.6	
		R5	7.2	4.1	3.1	
G6	ESTÁNDAR (Parche de Diclofenaco)	R1	6.4	4.1	2.3	2.80
		R2	7.0	4.2	2.8	
		R3	6.8	3.8	3.0	
		R4	6.5	3.7	2.8	
		R5	6.6	3.5	3.1	

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a datos experimentales

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

La tabla N° 33 se expone los resultados por los pesos conseguidos experimentalmente de las orejas de ratón (mg) mediante el método del edema auricular inducido por aceite de crotón, así como también la formación por los edemas de cada grupo de experimentación.

Se observa que el edema máximo se da en los grupos 1 y 4 correspondientes a los grupos controles tanto del gel como del parche, es decir que solo estuvieron expuestos al aceite de crotón sin ningún tratamiento más que suero fisiológico, los valores promedio de edematización fueron de 3.62 y 4.30 lo que demuestra la alta acción irritante del aceite de crotón el cual provoca un edema agudo al acrecentar la permeabilidad vascular y la introducción leucocitaria en la oreja derecha de los animales de experimentación. (74)

El edema mínimo se da en el grupo 3 (estándar) correspondiente al gel de diclofenaco 1% con un valor promedio de edematización de 0.30, seguido del gel al 5% con un valor promedio de edematización de 0.36, lo cual nos muestra su eficacia antiinflamatoria.

De otro lado, se observa que tanto el grupo 5 como el 6 correspondientes al parche elaborado en base al extracto y el estándar (Parche de diclofenaco), presentan altos niveles de edematización en comparación al grupo control con valores promedio de 3.4 y 2.8 respectivamente, esto se debe a que en la parte experimental, se hizo difícil la adhesión de los parches a la piel de los roedores de experimentación, los cuales pese a que estaban debidamente depilados aún tenían gran cantidad de pelos en su superficie lo que pudo dificultar el paso de las sustancias activas al torrente sanguíneo. A pesar de esto, se aprecia una baja de los valores de edematización frente al grupo control, siendo el grupo estándar más efectivo que el parche elaborado por un estrecho margen.

4.10.2. Análisis descriptivo de la formación de edema

TABLA N° 34: ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA FORMACIÓN DE EDEMA

Descriptivos					
Disminución de peso					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
Control (gel sin extracto)	5	3.60	3.70	3.6200	
Gel 5%	5	0,30	0,40	0,3600	0,05477
Estándar (gel de diclofenaco)	5	0.20	0.40	0.3000	
Control (parche sin extracto)	5	3,60	5,40	4,3000	0,81240
Parche (extracto)	5	3,10	3,60	3,4000	0,21213
Estándar (parche de diclofenaco)	5	2,30	3,10	2,8000	0,30822
Total	25	0,30	5,40	2,2840	1,63953

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a resultados estadísticos

En la tabla N°34 se exponen los resultados estadísticos de la formación de edema obtenidos a partir de los datos de la parte experimental de los pesos de las orejas tratadas, así como, no tratadas.

Se observa que la máxima desviación estándar corresponde a los grupos controles con un valor de 0.8124, el cual nos indica una mayor amplitud en la dispersión de los valores obtenidos de las medias.

4.10.3. Pruebas de ANOVA y Tukey para la determinación del porcentaje de edematización

TABLA N° 35: PRUEBA DE ANOVA PARA DETERMINAR PORCENTAJE DE EDEMATIZACIÓN

ANOVA					
Disminución de peso					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	61,250	4	15,312	93,826	0,000
Dentro de grupos	3,264	20	0,163		
Total	64,514	24			

Fuente: Elaboración propia en base a resultados estadísticos

TABLA N° 36: PRUEBA DE TUKEY PARA DETERMINAR PORCENTAJE DE EDEMATIZACIÓN

Disminución de peso						
	Tratamiento	N	Subconjunto para alfa=0.05			
			1	2	3	4
HSD tukey	Control (gel sin extracto)	5	3.6200			
	Gel 5%	5		0.3600		
	Estándar (gel)	5		0.3000		
	Estándar (parche)	5			2.8000	
	Parche(extracto)	5			3.4000	
	Control(parche sin extracto)	5				4.3000
	sig.		1.000	0.933	0.171	1.000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos						
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica=5.000.						

Fuente: Elaboración propia en base a resultados estadísticos

ANÁLISIS DE RESULTADOS:

En la tabla N° 35 se aprecia los resultados del examen por varianza de un factor ANOVA, con un nivel de confianza del 95% para comparar si las desiguales concentraciones del extracto etanólico al 70 % por raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) aplicados a los grupos de experimentación, difieren en la formación de edema.

Según el análisis estadístico se obtuvo $F=93.826$ con un nivel de significancia de 0.000; como este valor es mucho menor a 0.05 se rechaza la hipótesis nula o de igualdad de medias y concluimos que existe diferencia altamente significativa entre la formación de edemas de los grupos después de aplicar los diferentes tratamientos (Gel, parche y estándar).

En la tabla N°36 se aprecia los resultados de la prueba de Tukey, prueba posterior al ANOVA, que nos permite detectar las diferencias estadísticamente significativas que detectó de forma global el ANOVA y agruparlos en subconjuntos homogéneos (75). Según esta prueba se hallaron 4 subconjuntos homogéneos: El subconjunto 1 corresponde al grupo control del gel que nos indica que difiere significativamente de los otros grupos hallándose solo en una

columna. El subconjunto 2 agrupa al gel elaborado al 5% y a su estándar (gel de diclofenaco), lo cual nos indica que las medias de estos grupos no difieren de forma estadísticamente significativa hallándose así en la misma columna, es decir que sus formaciones de edemas son similares. El subconjunto 3 agrupa al parche elaborado y a su estándar (parche de diclofenaco), los cuales al igual que el subconjunto 2 no difieren de forma estadísticamente significativa en sus medias presentando así una formación de edema similares. Por el contrario, el grupo control del parche, quien difiere significativamente de los otros subconjuntos, se halla en el subconjunto 4 confirmándose de esta manera su mayor edematización al no estar sometido a ningún tratamiento.

4.10.4. Porcentajes de inhibición de la inflamación de los grupos experimentales

Para hallar el porcentaje de inhibición de la inflamación se siguió la siguiente fórmula: (29)

$$\%Inh = \frac{(Pt - Pnt)_{control} - (Pt - Pnt)_{tratado}}{(Pt - Pnt)_{control}} \times 100$$

Donde:

Pt = Es el peso de la sección de la oreja tratada

Pnt = Es el peso de la sección de la oreja no tratada

(Pt – Pnt) control: es el valor promedio de edema obtenido del grupo control

(Pt – Pnt) tratado: es el valor de edema derivado de los grupos problema y grupo patrón

TABLA N° 37: PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DE INFLAMACIÓN DE LOS GELES Y PARCHES ELABORADOS

GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN			Peso Oreja Tratada	Peso Oreja No Tratada (mg)	Formación de edema Ed= Pt-Pnt		Porcentaje de Inhibición de la Inflamación (%)	PROMEDIO % DE INFLAMACIÓN (*)
			(mg)					
G1	CONTROL (GEL)	R1	7.6	4	3.6	3.62	-----	-----
		R2	7.8	4.2	3.6			
		R3	8.2	4.5	3.7			
		R4	7.4	3.8	3.6			
		R5	7.9	4.3	3.6			
G2	GEL 5%	R1	4.1	3.7	0.4		88.95	90.06%
		R2	4.4	4.0	0.4		88.95	
		R3	4.2	3.9	0.3		91.71	
		R4	4.0	3.6	0.4		88.95	
		R5	4.5	4.2	0.3		91.71	
G3	ESTÁNDAR (Gel de diclofenaco 1%)	R1	4.2	3.9	0.3		91.71	91.71%
		R2	4.3	4.0	0.3		91.71	
		R3	3.9	3.7	0.2		94.48	
		R4	4.4	4.1	0.3		91.71	
		R5	4.1	3.7	0.4		88.95	
G4	CONTROL (PARCHES)	R1	6.7	3.1	3.6	4.3		-----
		R2	8.4	4.4	4.0			
		R3	9.0	3.6	5.4		-----	
		R4	8.1	3.2	4.9			
		R5	7.0	3.4	3.6			
G5	PARCHES (EXTRACTO)	R1	7.5	4.1	3.4		20.9	20.9%
		R2	7.1	3.8	3.3		23.3	
		R3	7.0	3.4	3.6		16.3	
		R4	7.8	4.2	3.6		16.3	
		R5	7.2	4.1	3.1		27.9	
G6	ESTÁNDAR (Parche de Diclofenaco)	R1	6.4	4.1	2.3		46.5	34.9%
		R2	7.0	4.2	2.8		34.9	
		R3	6.8	3.8	3.0		30.2	
		R4	6.5	3.7	2.8		34.9	
		R5	6.6	3.5	3.1		27.9	

Fuente: Elaboración propia en base a resultados del estudio

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N°37 se muestra los resultados de los porcentajes de inhibición de la inflamación de los grupos experimentales hallados mediante el método del edema auricular inducido por aceite de croton utilizando los datos de la formación de edema de los grupos experimentales mostrados en la tabla N°33.

Se observa que el gel al 5% presenta un % de inhibición de la inflamación de 90.06 %, esto representa una alta eficacia antiinflamatoria comparándolo con el fármaco estándar (gel de diclofenaco al1%) el cual obtuvo un % de inhibición de la inflamación de 91.71%.

Por otro lado, se observa que el parche transdérmico elaborado a partir del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) presenta un % de inhibición de la inflamación de 20.90%, es cual se considera bajo. Sin embargo, se observa que el estándar del parche transdérmico presenta un % de inhibición de la inflamación también bajo de 34.90%.

El estrato córneo es el mayor obstáculo que presenta la piel para la entrada de principios activos, debido a su contenido alto de queratina, lípidos intercelulares y su contenido bajo de agua, es por ello que, para que un fármaco pueda ser administrado mediante un sistema transdérmico, deben ser no iónicos, de bajo peso molecular, lipofílicos, y con un punto de fusión bajo (57). Debido a que el parche transdérmico fue elaborado con el extracto en crudo, el peso molecular de la misma es alto, al contener una amplia gama de metabolitos secundarios (flavonoides, alcaloides, glicósidos, terpenos, entre otros), por lo cual pudo influir de forma negativa el paso de las sustancias activas a través de la piel.

Otra vía de absorción percutánea es la transapendicular, el cual se lleva a cabo a través de los folículos pilosos y las glándulas sudoríparas, sin embargo, esta vía presenta una superficie limitada para que los fármacos ingresen en forma considerable (54). Todo ello nos da el indicio de que las sustancias activas presentes en el parche no llegaron a atravesar el estrato córneo de la piel de los animales de experimentación ni llegar a la microcirculación sanguínea en

cantidades suficientes, en vista de que tanto el estándar (fármaco patrón) como el parche elaborado presentan bajos porcentajes de inflamación con respecto a los geles, aunquen conservan una correlación similar en la que el estándar presenta mejor efecto antiinflamatorio que el parche elaborado, con porcentajes de 34.90% y 20.90% respectivamente.

Como mencionan Nakle M. y Fariña J. (55), a pesar de que existen numerosos estudios realizados en los últimos años, es necesario seguir explorando este novedoso campo, empleando promotores de absorción, temperatura sonoforesis e iontoforesis, a fin de aprovechar sus ventajas en mayor medida a nivel clínico.

4.10.5. Análisis descriptivo de los porcentajes de inhibición de la inflamación

TABLA N° 38: ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN

Descriptivos					
Porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
Gel 5%	5	88,95	91.71	90,0600	2,96926
Estándar (gel de diclofenaco 1%)	5	88.95	94.48	91.7100	2,45334
Parche (extracto)	5	16.30	27.90	20.9000	10,84424
Estándar (Parche de diclofenaco)	5	27.90	46.50	34.9000	11,93921
Total	20	5,56	92,86	56,8465	32,76984

Fuente: Elaboración propia de acuerdo a resultados estadísticos

En la tabla N°38 se muestran los resultados estadísticos por los porcentajes de inhibición por la inflamación de los diferentes grupos experimentales.

Se observa que la máxima desviación estándar corresponde a los grupos del parche tanto del elaborado como del estándar con valores de 10.84 y 11.94 respectivamente, lo cual nos indica una mayor amplitud en la dispersión de los valores obtenidos de las medias.

4.10.6. Pruebas de ANOVA y Tukey para la determinación de la actividad antiinflamatoria

TABLA N° 39: PRUEBA DE ANOVA PARA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

ANOVA					
Porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	19303,471	4	6434,490	93,600	0,000
Dentro de grupos	1099,911	16	68,744		
Total	20403,382	20			

Fuente: Elaboración propia en base a resultados estadísticos

TABLA N° 40: PRUEBA DE TUKEY PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL GEL Y PARCHES TRANSDÉRMICO

Porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto					
	Tratamiento	N	subconjunto para alfa=0.05		
			1	2	3
HSD Tukey	Parche (con extracto)	5	20.9302		
	Estándar (parche de diclofenaco)	5	34.8837		
	Gel 5%	5		90.0552	
	Estándar (gel de diclofenaco)	5		91.7127	
	Sig.		0.080	0.772	
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos					
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica=5.000.					

Fuente: Elaboración propia en base a resultados estadísticos

ANÁLISIS DE RESULTADOS:

En la tabla N°39 se estima los resultados del estudio de varianza de un factor ANOVA, con un nivel de confianza del 95% para comparar los diferentes grupos de experimentación, difieren en el porcentaje de inhibición de la inflamación.

Según el análisis estadístico se consiguió $F=93.600$ con un nivel de significancia de 0.000; como este valor es mucho menor a 0.05 se rechaza la hipótesis nula o de igualdad de medias y concluimos que, existe diferencia altamente

significativa entre las medias de los porcentajes de inhibición de la inflamación de los diferentes grupos de experimentación.

En la tabla N°40 se observa los resultados del ensayo de Tukey, prueba posterior al ANOVA, nos permite agrupar en subconjuntos homogéneos (75). Según esta prueba se hallaron 2 subconjuntos homogéneos: El primero agrupa al parche transdérmico elaborado y a su estándar, lo cual nos indica que las medias de estos grupos no difieren de forma estadísticamente significativa hallándose así en la misma columna e informándonos que el parche elaborado y el estándar (parche de diclofenaco) presentan similar efecto antiinflamatorio. El segundo subconjunto agrupa al gel al 5% y a su estándar (gel de diclofenaco al 1%), esto nos indica, al igual que el primer subconjunto, que las medias de estos grupos no difieren de forma estadísticamente significativa presentando un similar efecto antiinflamatorio.

CONCLUSIONES

1. Las dos formas farmacéuticas de aplicación tópica (gel y parche transdérmico) presentan efecto antiinflamatorio en ratones albinos, usando la concentración de extracto al 5%.
2. El extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) presenta un porcentaje de humedad de 30.67%, porcentaje de extracción de 12.89%, siendo muy soluble en etanol 96%, etanol 70% y acetona; y soluble en agua y metanol. Respecto a los metabolitos secundarios, presenta alcaloides y quinonas en abundante cantidad; y azúcares reductores, glicósidos, flavonoides, compuestos fenólicos y esteroides en moderada cantidad.
3. La concentración al 5 % del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) presenta mayor efecto antiinflamatorio al reducir en un 80.75% el edema agudo en oreja de ratón inducido por aceite de crotón, en comparación a los extractos al 10 % y 2.5 % que presentan porcentajes de inhibición de inflamación de 77.01 % y 72.73 % respectivamente.
4. Según el test de Draize, el extracto etanólico al 70 % de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) a las concentraciones de 10, 20 y 30 % no presenta toxicidad dérmica en la piel de *Cavia porcellus*.
5. Se realizó preformulaciones de las dos formas farmacéuticas obteniéndose una formulación óptima para cada forma farmacéutica las cuales fueron elaboradas., encontrando una formulación óptima para cada forma farmacéutica, a los cuales se les incorporó el extracto etanólico al 70 % de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) con la mejor concentración efectiva de 5%, siendo la formulación final del gel tópico a base de carboximetilcelulosa, metilparabeno, propilparabeno y glicerina; asimismo, la formulación final del parche transdérmico resultó a base de carboximetilcelulosa, carbopol, glicerina, etanol, ácido oléico.
6. El control de calidad de las dos formas farmacéuticas elaboradas (gel y parche transdérmico) a base del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) a la concentración de 5% resultaron aceptables en sus características organolépticas, microbiológica y fisicoquímicas.

7. La evaluación del efecto antiinflamatorio de las dos formas farmacéuticas de aplicación tópica elaboradas a partir del extracto etanólico al 70% de raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) a la concentración de 5% usando un patrón antiinflamatorio (Diclofenaco en Gel y Parche) y grupo control (suero fisiológico) mediante el método del edema agudo en oreja de ratón inducido por aceite de crotón (12-O- Tetradecanoil Forbol-13 Acetato (TPA)) indica que el gel presenta el mismo efecto antiinflamatorio que el fármaco patrón (Diclofenaco 1%) y el parche presenta un efecto antiinflamatorio menor que el fármaco patrón (Parche de Diclofenaco), con reducciones de la inflamación de 90.06% y 20.9% respectivamente.

RECOMENDACIONES

A LOS INVESTIGADORES

- Continuar el estudio de sistemas transdérmicos utilizando principios activos estandarizados.
- Continuar con trabajos de investigación que complementen los estudios realizados.
- Continuar el estudio de sistemas transdérmicos y realizar más estudios de control de calidad a estas formas farmacéuticas.
- Desarrollar estudios de tipo etnofarmacológicos para aprovechar el extenso conocimiento de medicina natural y la riqueza fitoterapéutica existente en las comunidades rurales.
- Realizar estudios de caracterización estructural de los metabolitos secundarios de la planta *Acaulimalva engleriana* (Altea).
- Efectuar más ensayos a fin de evaluar la actividad biológica de cada uno de los metabolitos aislados y cotejar con la eficacia que muestra el extracto total.
- Realizar estudios de histopatología que complementen el test de Draize.
- Realizar estudios de estabilidad y viscosidad del gel.
- Realizar pruebas de liberación prolongada y permeación cutánea invitro del parche transdérmico.

3. BIBLIOGRAFÍA

1. IdEAC I. Plantas medicinales de La Matamba y El Piñonal, municipio de Janampa, Veracruz. En Escamilla Perez BE, Moreno CP.. Mexico: 1ra edicion; 2015. p. 108.
2. Nash H. The Swifttest. [Online].; 2022. Acceso 5 de 12 de 2023. Disponible en: <https://theswifttest.com/biodiversity-index/>.
3. Silvestri C. Conservación de la diversidad genética en el Peru: desafíos en la implementación del régimen de acceso a recursos geneticos y distribución de beneficios. Revista Peruana de Biologia. 2016; 13(1).
4. OPS/OMS Gtdeepm. Organización Panamericana de la Salud. [Online].; 2019. Acceso 12 de Enero de 2024. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/50479>.
5. Fares-Frederickson N, Michael D. Introducción a la inmunidad y la inflamación. En Brunton LI, editor. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 13va edición. California, San Diego: Mc Graw Hill Education; 2019. p. 621-637.
6. Padrón Gonzales AA, Gonzales Costa M. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 2019; 18(1(30-44)).
7. Rodriguez Cauti D, Torres Narvaez E, Quevedo Valverde OH. Factores que se asocian en la automedicación con AINES en pacientes de consulta externa de gastroenterología del Hospital San José - Callao. Tesis. Lima: Universidad Interamericana para el Desarrollo, Facultad de ciencias de la salud, departamento de Farmacia y Bioquímica. 2018.

8. Mantilla J. Las plantas medicinales de nuestra madre tierra. En Mantilla J, editor. Las plantas medicinales de nuestra madre tierra. Cusco; 2004. p. 2-10.
9. Ramos Dos Santos I, Mezomo M, Leite Santos LG, Moura Alves GS, Reis Moretto G. Uso indiscriminado de antiinflamatorios no esteroideos y sus relaciones con enfermedades gastrointestinales. Revista científica multidisciplinar Ciencia Latina. México. 2022; 6(6).
10. Sanchez Prado E, Nuñez Quezada DdC, Dután Torres B, Sancehz Prado G, Jirón Velez F. Revisión bibliográfica sobre automedicación con antiinflamatorios no esteroideos en la población. Ciencia Latina revista científica multidisciplinar. 2024; 8(1).
11. Divins MJ. Antiinflamatorios tópicos. Revista farmacia profesional. 2017; 31(1 (5-9)).
12. Ramirez Morales A, Martinez Alcaraz R, Zapata Morañes JR. Sistemas transdérmicos de administración de fármacos. Naturaleza y tecnología. 2019; 1(6).
13. Sánchez Olivera S. Parches poliméricos bicapa cargados con nanopartículas de propóleo para el tratamiento de heridas en ratas Wistar diabéticas. Tesis. Cuautitlán: Universidad nacional autónoma de México. 2024
14. Wong Fen W, Ping Ang K, Sethi G, Yeng Looi C. Parches transdérmicos: revisión actualizada como un novedoso sistema de administración de fármacos. Medicine. 2023; 59(4).
15. Levine WZ, Saffer AJ, Loewy Z, inventores; Película, parche o formulación sólida adhesiva que comprende Sambucus nigra, Centella. España. Patente 2605794. 16 de Marzo de 2017.

16. Mercado Zúñiga GA. Actualización de los procesos de absorción percutánea de los dispositivos médicos transdérmicos para la administración de fármacos. Tesis de pregrado. Arequipa: Universidad Católica de Santa María, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, ,Bioquímicas y Biotecnológicas. 2024.
17. Cordova Olortino PL. Evaluación de la actividad antiinflamatoria en ratas albinas cepa Holtzman del extracto hidroalcohólico de las hojas de Kalanchoe daigrenmontiana Aranto. Tesis Pregrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 2022
18. Neyra Remicio S, Villalobos Salazar RS. Evaluación del efecto antiinflamatorio de un gel formulado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de Quararibea cordata (BONPL.) Visher "Zapote" en ratones y evaluación analgésica del extracto hidroalcohólico. Tesis. Lima: Universidad Norbert Wiener, Lima. 2020.
19. Huamanteca Manrique M, Rodriguez Rodriguez MA. Efecto antiinflamatorio del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de Ambrosia arborences Mill (Marco) en ratas albinas. Universidad Interamericana UNID. 2019.
20. Kuncho Ligas AM. Elaboración y evaluación del efecto antiinflamatorio del gel tópico formulado a base del extravto etanólico al 70% de las hojas de Rosmarinus officinales L. "Romero" y determinación de la toxicidad dérmica aguda. Tesis de pregrado. Cusco: UNSAAC, Cusco. 2018
21. Huaman J. Determinación del efecto antiinflamatorio, toxicidad dérmica aguda del extracto hidroalcohólico al 70 % de las raíces de Azorella biloba (Tulluma) en animales de experimentación y elaboración de un gel tópico. Tesis de pregrado. UNSAAC, Cusco. 2017.

22. Huancahuire C. Actividad antimicótica in vitro de *Acaulimalva engleriana* (ULbrich) Krapovickas (Altea) frente a *Candida albicans* causante de vulvovaginitis. Tesis de pregrado. UNSAAC, Cusco. 2004
23. Bussmann R, Douglas S. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia. La flora mágica y medicinal del norte del Perú. *Etnobotany research & applications. A journal of plants, people and applied research*. 2016; 15(1).
24. Sarmiento Mamani J. Determinación del efecto cicatrizante, toxicidad aguda tóxica, elaboración de una forma farmacéutica del extracto hidroalcohólico al 70 % de *Acaulimalva engleriana* (Thurpay). Tesis. UNSAAC, Cusco. 2016.
25. Mantilla Holguin J. Las plantas medicinales de nuestra madre tierra Cusco: Instituto de Ecología y plantas medicinales IEPLAM; 2008.
26. Kadel CF. Rock Garden Plant. [Online]; 2024. Acceso 21 de junde 2024. Disponible en: <https://flora.kadel.cz/cn/kvCard6330.html>.
27. García Dorado J, Alonso Fraile P. Anatomía y fisiología de la piel. *Pediatría general*. 2021; 24(3).
28. Buendia A, Mazuecos Blanca J, Camacho Martinez F. Anatomía y fisiología de la piel. *Manual de dermatología*. 2018; II(Pag. 2-27): p. 978-984.
29. Lockart R, Hamilton G, Fyfe F. Anatomía humana. 35th ed. Mexico: Nueva editorial interamericana; 2019.
30. P L. A traves de la piel. [Online].; 2018. Acceso 10 de 12 de 2022. Disponible en: https://es.1234rf.com/ph0to_44493562_secci%C3%B3n-transversal-a-trav%C3%A9s-de-la-piel-que-muestra-las-diversas-capas-de-la-epidermis-creado-en-adobe-il.html.

31. Brown TM, Krishnamurthy K. Histology, dermis. StatPearls Publishing. 2022.
32. Carranza Gajardo E. Anatomía de la Piel. Revista Iberoamericana de Dermatología. 2019.
33. Burgos A. Recuerdo anatómico de la piel: estructura y funciones. Revista electrónica Portales Médicos. 2018.
34. Jacinto Flores SA. Fisiología de la piel. En Paiz Tejada J, editor. Quemaduras. Abordaje integral. Mexico: Editorial Alfil; 2024. p. 23-29.
35. Pietro Martin A, Perez Gomez A, Gomez Lahoz AM, Barbarroja Escudero J. Inflamación, activación del endotelio vascular y trombosis. Programa de formación médica continuada acreditado. 2021; 13(33).
36. Villalba Herrera W. Inflamación I. Revista de actualización clínica e investigación. 2014; vol. 43(Pag. 61-65).
37. Gonzales Costa M, Padrón Gonzales A. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la medicina en el siglo XXI. Revista Habanera de ciencias médicas. 2019; 18(1).
38. Leon Regal ML, Alvarado Borges A, De Armas Gargia O, Miranda Alvarado Luciano. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. Revista Finlay. Universidad de ciencias médicas. Cuba. 2015; 5(1).
39. Gillman G. Las Bases Farmacológicas de la terapéutica.
40. Valera Rodriguez N, Rodriguez Leon JE. Bases moleculares de la causa de la respuesta inflamatoria. En: I convención de atención primaria y salud comunitaria "Dr. José Raimundo Oquendo"Abreus, Cuba; 2023 p. 78-88.

41. Bordes Gonzales R, Martinez Beltran M, Garcia Olivares E, Guisado Barrilao R. El proceso inflamatorio. Granada: Universidad de Granada. Escuela universitaria de ciencias de la salud, Departamento de enfermería y fisioterapia.
42. Kumar V, Abbas AK, Aster JS. Inflammation and Repair. En Kumar V, Abbas AK, Aster JS. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Canada: Elsevier Saunders; 2018. p. 69-109.
43. Gonzales Dominguez E. Inflamación: desde una perspectiva celular y molecular.. Revista de divulgación Ra Río guendaruyubi. Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca. 2022; 5(15).
44. Ackermann MR. Inflammation and healing. En Pathologic basics of veterenary disease.: 6ta edición; 2017.
45. Castañeda S, Garcés Puentes M, Bernard Pineda M. Fisiopatología de la osteoporosis en las enfermedades articulares inflamatorias crónicas. Revista de osteoporosis y metabolismo mineral. 2021; 13(1).
46. Keb Canul AF. Mecanismo de los AINES y antiinflamatorios derivados para el control del dolor y la inflamación. Uso de antiinflamatorios en odontología. Revista ADM. 2022; 79(1).
47. Diclofenaco. Vademecum. [Online]; 2022. Acceso 17 de enerode 2023. Disponible en: <http://www.vademecum.es>.
48. Diclofenaco. Vademecum. [Online]; 2022. Acceso 23 de Enerode 2023. Disponible en: <http://www.igb.es/cbasicas/farma/farma04>.
49. Garcia Colmenero I, Díaz Franco SD. Aspectos de seguridad en el tratamiento de dolor con analgésicos antiinflamatorios no esteroideos. Revista de Sanidad Militar. 2019.

50. Comisión permanente de la farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Formas farmacéuticas de medicamentos homeopáticos. Proyecto. México:, Comisión federal para la protección contra riesgos sanitarios.2.
51. Prince Salinas C. Diseño y elaboración de un gel tópico a base de aloe vera. Tesis posgrado. Universidad nacional autónoma de Honduras. Facultad de química y farmacia, Honduras.
52. De Diego M, Ortiz de Zarate JdA. Geles. Panorama actual del medicamento. Universidad de La Rioja. 2017; 41(400).
53. Sanchez Saldaña LA. Absorción percutánea. Sociedad Peruana de Dermatología. 2018; 28(2).
54. Salgado Machuca M. Desarrollo y caracterización de un parche transdérmico tipo reservorio-matricial cargado con L-carnitina como coadyuvante al tratamiento de control de peso. Tesis de maestría. Xochimilco: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Departamento de Sistemas Biológicos.
55. Nakhle Eid MP, Fariña Espinosa JB. Avances en los sistemas transdérmicos para la administración de fármacos. Tesis. Tenerife, España: Universidad de La Laguna, Facultad de Farmacia.
56. Magaña Torres P. Investigación sobre el uso de partículas poliméricas para el desarrollo de parches transdérmicos como alternativa para el suministro de THC. Trabajo monográfico de actualización. Universidad Autónoma Metropolitana, Ciencias biológicas y de la salud.
57. Yi Qun Y, Yang X, Wu XF, Fan Y. Mejora de la permeación cutánea de moléculas de fármacos mediante la administración en

nanotransportadores: Nuevas estrategias para aplicaciones transdérmicas eficaces. *Bioeng Biotechnol.* 2021; 9(29).

58. Kligman A. Skin permeability: dermatologic aspects of transdermal drug delivery. *Aam Heart.* 2016; 200(1).
59. Nakhle Eid MP. Avances en los sistemas transdérmicos para la administración de fármacos. Monografía. España: Universidad de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife.
60. Zúñiga Mercado GA. Actualización de los procesos de absorción percutánea de los dispositivos médicos transdérmicos para la administración de fármacos. Tesis. Arequipa Perú: Universidad Católica de Santa María, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas.
61. Arroyo Acevedo JL, Cisneros Hilario CB. Modelos experimentales para determinar el efecto antiinflamatorio. En Arroyo Acevedo JL, Cisneros Hilario CB. Modelos experimentales de investigación farmacológica. Lima-Peú: ASDIMOR; 2012. p. 35-45.
62. UNE-EN AEdN. Evaluación biológica de productos sanitarios Parte 23: Ensayos de irritación ISO 10993-23 Madrid: UNE-EN; 2021.
63. Marinou K, Dontas I. Legislación de la Unión Europea sobre el bienestar de los animales utilizados con fines científicos: áreas identificadas para discusión adicional. *PubMed.* 2023; 13(14).
64. MacArthur Clark J, Sun D. Directrices para la revisión ética del bienestar de los animales de laboratorio. Norma Nacional de la República Popular China. *PubMed.* 2020; 14(3).

65. Guía técnica para el manejo y cuidado de animales de laboratorio. Guía técnica. Mexico DC: Instituto Nacional de enfermedades respiratorias Ismael Cosío Villegas, Oficina de Bioterio.
66. Palacio Arias A, Betancourth Chaves P, Estrada Cely GE, Blguera Quinche DF. Protocolos de evaluación del bienestar animal en animales de experimentación, diseño y aplicación. Guías de cuidado y manejo de animales de experimentación. En Cabra Martinez A, Cortés Vecino JA, editores. Bioética, bienestar y la experimentación con animales. Bogotá, Colombia: ASFAMEVEZ; 2021. p. 39-71.
67. Molina MARTINEZ J, Alonso Villavecencio G, Heredia Ruiz D, Garcia Cruz MN, Sanchez Alvarez C, Castro Gutierrez M, et al. Bioética en la experimentación animal. Revista Electronica de Veterinaria. 2015; 16(2).
68. Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios Edmyp. Formulario nacional. BOE. Boletín oficial del estado. España. 2020; 3ra edición.
69. Villar del Fresno AM. En Villar del Fresno AM. Farmacognosia general.
70. Ruiz Reyes SG. Contribución del estudio farmacognóstico y farmacodinámico de las hojas de Magnifera indica L. al uso medicinal. Tesis. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo - Perú.
71. Robles Garcia MA, Aguilar A, Gutierrez Lomeli M, Rodrigo Felix F, Morales Del Rio JA, Guerrero Medin PJ, et al. Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de Tempisque (*Sideroxylum capiri* Pittier). Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. 2016; XVIII(3).

72. Lock O. Generalidades sobre el análisis fitoquímico. En Olga L. Investigación fitoquímica. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. p. 1-3.
73. Nuñez Y, Montero C, Agüero S, Muñoz A. Efecto antiinflamatorio preclínico del polvo seco de *Calendula officinalis*. Revista Latinoamericana de Farmacia. 2007; 4(26).
74. Tubaro A, Dry P, Delbello G, Zilli C. The croton oil ear test revisited. Scienceopen. 1986. 17(3-4).
75. Frías Navarro DUdV. Diseño entre grupos univariado unifactorial. Contraste de hipótesis específicas. [Online].; 2013. Acceso 24 de 09 de 2018. Disponible en: <http://www.uv.es/friasnav/>.
76. Brito Alvarez G, Frías Vasquez AI, Morón Rodríguez J, Delgado Galicia N, Cabrera Suárez HR. Validación preclínica del efecto antiinflamatorio tópico de cinco plantas medicinales. Revista Cubana de plantas medicinales. Scielo. 2014; 19(1).
77. Widicey M. Relación dosis-respuesta en toxicología y farmacología: tipos y aplicaciones. Journal of drug metabolism and toxicology. 2025; 16(1).
78. Onofre Hurtado LF. Evaluación del efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *taxodium huegelii*. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de medicina veterinaria y zootecnia.
79. Harvey R, Champe P. Farmacología. Cuarta ed.: Lippincott; 2009.
80. Gonzales Amañuela M, Mendivil Crespo I, Gutiérrez Martínez I, Blanco Alonso A. Automedicación con AINE por los usuarios de dos consultas de atención primaria. Bilbao: Gad Med. 2006; 103(54-57).

81. Triviño Divins J. Antiinflamatorios tópicos: Acción local. Rev. Farmacia Profesional Elsevier. 2003; 17.
82. Chango M, Leon B, Sanchez I. Malvaceae endémicas del Perú. Rev. Peruana de Biología. 2006; 13(2).
83. Dzekan H, Hoffman HR, Horstmann M, Muller W, Wiedersberg S, inventores; Sistema terapéutico transdérmico con pequeña tendencia a la cristalización espontánea. España. Patente 2570205. 17 de Mayo de 2016.
84. Enciso E, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia Rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. Scielo Peru. 2011; 72(4).
85. Gomez Estrada HA, Gonzales Ruiz KN. Actividad antiinflamatoria de productos naturales. Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas. 2011; 10(3).
86. INS CNDPB. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio. Instituto Nacional de Salud-Lima Peru. 2008.
87. Peñina P, Diana P. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto de *Allpa atsera* (*Lepidium bipinnatifidum*) mediante el test de edema inducido en ratas (*Rattus norvegicus*). Tesis. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Chimborazo.
88. Villena C, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio del extracto antiinflamatorio de *Oenothera rosea* (yawar soncco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. Tesis. UNMSM, Lima.
89. Huamani R. Efecto antiinflamatorio y toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico seco de *Brassica rapa* subsp. *Campestris* (L.) Clapham (nabo silvestre) en animales de experimentación. Tesis. UNSAAC, Cusco.

90. Gallegos A. Elaboración de una forma farmacéutica para tratar dermatitis exógenas por medio del extracto de las hojas Tzanza Lo Shili, planta nativa del centro cultural Uni-Shu de la comuna Chiguilpe de Santo Domingo de los Tsáchilas. Tesis. Ecuador: Universidad Regional Autónoma de los Andes.
91. Fetih G, Ibrahim M, Amin M. Diseño y caracterización de películas transdérmicas conteniendo ketorolaco trometamina. EEUU: International Journal of PharmTech Research.3.
92. Prabu S, Shirwaikar A. Diseño y evaluación de matrices de difusión controlada en parches transdérmicos de clorhidrato de diltiazem. , Ars Pharm.
93. Flores A, Sanchez S. Propuesta de elaboración de tres formulaciones de una pomada de uso tópico a partir de latex de *Jatropha curcas* (Tempate). Tesis. Universidad de El Salvador.
94. Zarate A, Saucedo R, Basurto L. El tejido adiposo: una nueva glándula del sistema endocrino. Revista de la Academia Mex. de Ciencias. 2013; 63(3).
95. Joneyman J. Fisiología de la piel. Dermatología Iberoamericana. 2013.
96. Pocok G. Fisiología humana. 2nd ed.: Masson; 2012.
97. B K. Farmacología básica y clínica. 1st ed.: Mac Graw-Hill; 2009.
98. B V. Farmacología y su proyección en la clínica. 2nd ed. Madrid: Oteo; 1993.
99. Pizarro M. Formulaciones tópicas y transdérmicas. Universidad Complutense. 2019.

100. Lopez B, Ortonobez R, Garcia C. Unguentos, pomadas, cremas, geles y pastas: ¿es todo lo mismo? Atención Primaria. 2015; 8(4).
101. Herráez M, Lopez A. Formas de administración sobre la piel y las mucosas. En Vila Jato J. Tecnología farmacéutica Vol II. Formas Farmacéuticas. Madrid: Síntesis SA; 2011. p. 306-333.
102. Villarino N, Landoni M. Administración transdérmica de fármacos: una alternativa terapéutica. Analect. 2006; 26(1).
103. Jimenez P, Rodriguez I. Agentes promotores de la permeación cutánea. Revista Cubana Farm. 1998; 32(1).
104. Perez B. Estudio de la función del cuerpo. Fisiología humana. México: Mc Graw Hill; 2013. p. 19-20.
105. Latarjet M, Ruiz Liard A. Integumento común. Sentido del tacto. En Pró A, editor. Anatomía humana. México: Editorial médica panamericana; 2007. p. 465-468.
106. Toledo Yupanqui CL. Inflamación: mediadores químicos. Revista de actualización clínica. 2014; 43(1).
107. Fleith HB. Chronic inflammation. En Pathobiology of human disease. New York: Stony Brook University; 2014. p. 300-314.
108. Vega Robledo GB. Inmunología para el médico general. Inflamación. Revista de la facultad de medicina UNAM. 2008; 51(5).
109. Juve J, Vilcasillas A, Del Pozo A. Geles en dermofarmacia: conceptos generales y elementos para su formulación. Unidad de tecnologías farmacéuticas. Facultad de farmacia. Universidad de Barcelona. 2007; 36.

110. Vila Jato JL. Sistemas administrados por vía percutánea. En Vila Jato JL, editor. Tecnología farmacéutica Vol. II: Formas Farmacéuticas. Madrid: Síntesis; 2011. p. 416-422.
111. De la Cruz Castillo A, Mostacero Leon J. Uso de plantas medicinales para la cura de enfermedades y dolencias: El caso del poblador de la provincia de Trujillo, Perú. Revista de investigación científica. Universidad Nacional de Tumbes, Perú. 2019; 16(2).
112. Mostacero , Castillo F, Mejia R, Gamarra O. Plantas medicinales del Perú. Instituto Pacífico SAC. 2011.

ANEXOS

ANEXO N° 1: MUESTRA BOTÁNICA DE LA ESPECIE EN ESTUDIO



Partes aéreas y raíces de *Acaulimalva engleriana* (altea) prensadas para posterior reconocimiento taxonómico.

ANEXO N° 2: CERTIFICACIÓN DEL HERBARIO VARGAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

• APARTADO POSTAL
N° 991 - Cusco - Perú

+ FAX: 231158 - 231171 - 231172

+ RECTORADO

Calle Tírris N° 121
Teléfono: 232211 - 234451 - 234161

• CIUDAD UNIVERSITARIA

Av. de la Cultura N° 731
Teléfono: 232661 - 232312 - 232376
232719 - 232226

• LOCAL CENTRAL

Plaza de Armas N° 1
Teléfono: 232571 - 232721 - 234015

• MUSEO E INSTITUTO DE ARQUEOLOGÍA

Calle del Almirante N° 101 - Teléfono: 237130

• CENTRO AGRONÓMICO RAVRA

San Isidro de Cusco - Teléfono: 271-409 - 371833

• COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"

Av. de la Cultura N° 731
"Ciudad Universitaria" - Teléfono: 227197

HERBARIO VARGAS (CUZ)

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 010-2018-HVC-FCB-UNSAAC

La Dirección del Herbario Vargas (CUZ) -Facultad de Ciencias- de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que, las señoras **Sinder Cateina Gonzales** con código de matrícula N° 111277 y **Myrian Taco Corredor** con código de matrícula N° 111965 Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, ha presentado a la Dirección del Herbario Vargas (CUZ) una muestra vegetal herborizada para su determinación taxonómica (expediente N°002005), para el proyecto de tesis titulado "EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA) Y ELABORACIÓN DE DOS FORMAS FARMACÉUTICAS DE APLICACIÓN TÓPICA (CREMA Y PARCHES TRANSDÉRMICOS) EN RATONES ALBINOS". La que al ser diagnosticada por la M. Sc. Gloria Calitayua Hermoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada, y comparación con muestras del Herbario, concuerdan con la clasificación del grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIES
1	Malvaceae	<i>Acaulimalva engleriana</i> (L.f.) Krapov.

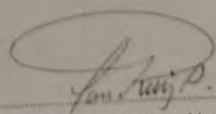
Se le expide la presente certificación a petición formal de las interesadas para los fines que vieran por conveniente.

Cusco, 04 de octubre del 2018

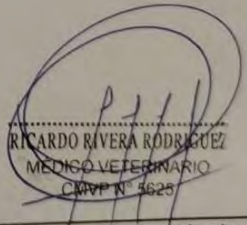

Bga. María Luisa Ochoa Cámara
Directora del Herbario Vargas (CUZ)



**ANEXO N° 3: CERTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN
(RATONES ALBINOS)**

		INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO	
CERTIFICADO SANITARIO N°		148-2023	
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M – 50- 2023
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 55
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 2 meses
Peso	: Mayor a 25 gr.	Sexo	: Macho
Boleta de venta	: B002-4051	Destino	: Calcina Gonzales, Sinder
Fecha	: 13-12-2023		
El Médico Veterinario, que suscribe, Jorge Ruiz Alarcón Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.			
*Referencia : PRT-CNPB-002-BIO, Procedimiento: "Control Sanitario de Animales del Bioterio"			
Chorrillos, 13 de diciembre del 2023			
(Fecha de emisión del certificado)			
NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.		 M. V. Jorge Ruiz Alarcón. C.M.V.P. 5052	

ANEXO N° 4: CERTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN (COBAYOS ALBINOS)

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD	
	CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS	
	COORDINACIÓN DE GRANJA Y PRODUCCIÓN AGRÍCOLA	
	CERTIFICADO SANITARIO N° P- 006- 2023	
Producto: Cobayo (09 Unid.)		Sexo: 5 Machos/ 4 Hembras
Especie: <i>Cavia porcellus</i>		Peso: 300- 500 gr.
Raza: Cobayo Albino Tipo Hartley		Edad: 20 – 25 días
N° de código: No aplica		Destino: CALCINA GONZALES, SINDER
N° de identificación: POZA N° 03 (03 unidades). POZA N° 04 (03 unidades). POZA N° 08 (02 unidades). POZA N° 18 (01 unidad).		Lote N°: Cb-11-23
Fecha: 13 de Diciembre del 2023		Guía de Remisión: salida con Boleta de venta electrónica No B002-0004051
El Médico Veterinario que suscribe el presente CERTIFICADO <i>Ricardo Rivelino Rivera Rodríguez</i> Responsable de la Coordinación de "Granja y Producción Agrícola" certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias y libre de enfermedades infectocontagiosas.* * Según PRT-CNPB-001-GPA Control Sanitario en la Granja y Producción Agrícola. Chorrillos, 13 de Diciembre del 2023  RICARDO RIVERA RODRÍGUEZ MÉDICO VETERINARIO CMVP N° 5625 Coord. "Granja y Producción Agrícola" CGPA-DEPIV-CNPB/INS Nota: La Coordinación de Granja y Producción Agrícola no se hace responsable por el manejo que reciban los animales y/o insumos diversos una vez que estos egresan de la misma.		

ANEXO N° 5: PRUEBAS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70%

1. DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES: PRUEBA DE BENEDICT

A 0,5 ml de solución de extracto agregar 0,2 ml del reactivo de Benedict, calentar en baño a ebullición por 5 minutos y se deja enfriar. La formación de un precipitado de color rojo ladrillo indicara prueba positiva (71).

2. DETERMINACIÓN GLICOSIDOS

A 200 mg de extracto se le agrega 2 ml de HCL al 1% refluja por 5 minutos , enfriar y neutralizar con NaOH al 1% ,luego tratar con carbón activado y filtrar ,con porciones de 0,5 ml de la solución ,realizar la prueba de Benedict. La formación de un precipitado rojo ladrillo, indicara prueba positiva (71).

3. DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS : PRUEBA DE NINHIDRINA

A 0,5 ml de extracto acidificarlo con HCL al 1%, agregar 2 a 3 gotas de la solución de ninhidrina al 1% calentar por 5 minutos en baño de agua a ebullición .Las coloraciones rojizas, violetas o amarillas indican prueba positiva (71).

4. DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES: REACCION DE SHINODA

A 0,5 ml de extracto, agregar algunas limaduras de magnesio metálico más 2 o 3 gotas de HCL concentrado, indican prueba positiva coloraciones rojizas, tendientes al amarillo o azuladas. Las chalconas, auronas, catequinas e isoflavonas no dan prueba positiva (71).

5. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS

A 0,5 ml de extracto agregar 1 o 2 gotas de cloruro férrico al 1% en solución acuosa .La presencia de precipitados o coloraciones azuladas – verdosas indican prueba positiva (71).

6. DETERMINACIÓN DE QUINONAS

A 0,2 ml de extracto agregar 0,4 ml de ácido sulfúrico concentrado, coloraciones rojizas indican prueba positiva (71).

7. DETERMINACIÓN DE RESINAS

A 0,2 ml de extracto agregar 2 o 3 gotas del reactivo acetato de cobre .Una coloración verde esmeralda indica prueba positiva (71).

8. DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES

Para realizar las pruebas; solubilizar 0,5 g de extracto con HCL al 5%, filtrar y finalmente se realiza el siguiente ensayo (71):

REACCION DE DRAGENDORFF

A 0,5 ml de la solución ácida agregar 2 o 3 gotas del reactivo de dragendorff. La formación de un precipitado naranja o marrón, indicara presencia de alcaloides.

9. DETERMINACIÓN DE TANINOS

A 0,5 ml de extracto adicionar 2 o 3 gotas de cloruro férrico al 1%, la aparición de coloración o formación de precipitado indica que la prueba es positiva. La coloración azul oscuro indica presencia de taninos gálicos y una coloración verde la presencia de taninos catéquicos (71).

10.DETERMINACIÓN DE SAPONINAS: PRUEBA DE ESPUMA

Aproximadamente 0,1 g del extracto se solubiliza en 5 ml de agua o en 5ml de etanol al 40%, filtrar si es necesario, el filtrado agitar vigorosamente por 30 segundos .L a formación de espuma persiste por 30 minutos, indica la presencia de saponinas (71).

11.DETERMINACIÓN DE LACTONAS: PRUEBA DE BALJET

Se pone en contacto 200 mg de extracto con 2 o 3 gotas de reactivo (mezcla a y b en volúmenes iguales); una coloración naranja o rojo oscuro indicara prueba positiva (71).Baljet (reactivo a: ácido pícrico al 1% en etanol y reactivo b: KOH al 10%).

ANEXO N° 6: CERTIFICACIÓN DEL CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL GEL

LAB BIOTEC
LABORATORIOS DE ANÁLISIS BIOLÓGICOS Y CLÍNICOS E INVESTIGACIONES BIOTECNOLÓGICAS

Blga. NORA EMMA UGARTE BUSTINZA Tel. Lab. 243466, Casa 233029
Urb. Mariscal Gamarra 21 - J. 1ra Etapa, Cusco - Perú. Celular 984 - 838741

Solicitante : Sinder Calcina Gonzales
Myrian Taco Corredor

Proyecto : "Formulación de un Gel Tópico y un Parche Transdérmico a Base de Extracto Etanólico al 70 % de Raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea) y Determinación de su Efecto Antiinflamatorio

Fecha : Cusco, 15 de Octubre del 2024.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

1. DATOS DE MUESTRAS:

Muestra 01 : Gel al 5 % del Extracto Etanólico al 70 % de Raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea).

Muestra 02 : Gel al 10 % del Extracto Etanólico al 70 % de Raíces de *Acaulimalva engleriana* (Altea).

Tipo de envase : Frascos de plástico.

Fecha y hora de Entrega de Muestras: Cusco, 03 de Octubre del 2024, 11:00 a.m.

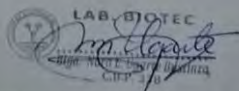
2. RESULTADOS:

La Empresa LAB - BIOTEC, informa los siguientes Resultados:

Agente Microbiano	Resultado	Límites por mililitro de Acuerdo a Norma	
		Mínimo (m)	Máximo (M)
Aerobios Mesófilos Viable (ufc/ml)	(1) 0.1x10 ¹ (2) Ausente	10	10 ²
Coliformes Totales (NMP/100 ml)	(1)y (2) Ausente	Ausencia (1 ml)	Ausencia (1 ml)
<i>Escherichia coli</i> (ufc/ml)	(1)y (2) Ausente	Ausencia (1 ml)	Ausencia (1 ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ufc/ml)	(1)y (2) Ausente	Ausencia (1 ml)	Ausencia (1 ml)
<i>Candida albicans</i> (ufc/ml)	(1)y (2) Ausente	Ausencia (1 ml)	Ausencia (1 ml)
Recuento total de Hongos y Levaduras (ufc/ml)	(1) 0.1x10 ¹ (2) Ausente	10	10 ¹

USP 38 (Criterios de aceptación para la calidad microbiológica de formas farmacéuticas no estériles) **Leyenda: (1) Muestra 01, (2) Muestra 02.**

3. CONCLUSIÓN: Producto apto para uso humano, por estar los valores dentro de los rangos permisibles que exige la norma.



Exámenes Hematológicos, Cultivos Microbiológicos, Bioquímicas, Marcadores Tumorales, Cardíacos, Hormonales Enfermedades infecciosas, ADN

ANEXO N° 7: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD			
PESOS	NUMERO DE DETERMINACIONES		
	1	2	3
Peso de muestra fresca			
Peso de muestra seca			
Porcentaje de humedad			
Porcentaje promedio de humedad			

Fuente: Elaboración propia

Procedimiento: Se realizará por triplicado, en placas Petri con 10 gr de muestra fresca de la planta las cuales serán introducidas en la estufa a una temperatura de 40 ° C hasta peso constante (Nollet, 1996). (62)

Fórmula: (62)

$$\% H = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

Donde:

% H = porcentaje de humedad.

M1 = peso de la muestra fresca.

M2 = peso de muestra seca.

ANEXO N° 8: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Agua destilada	
Metanol	
Etanol al 40%	
Etanol al 50%	
Etanol al 70%	
Etanol al 90%	
Acetona	
Acetato de etilo	
Éter etílico	
Cloroformo	
Benceno	
Hexano	
Éter de petróleo	
Bencina	

Fuente: Elaboración Propia

Donde:

Muy soluble: +++

Soluble: ++-

Poco soluble: +--

Insoluble ---

**ANEXO N° 9: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL ANÁLISIS
FITOQUÍMICO CUALITATIVO**

METABOLITO SECUNDARIO	REACTIVO	RESULTADOS
Azúcares reductores	Benedict	
Glicósidos	Benedict	
Aminoácidos	Ninhidrina	
Flavonoides	Shinoda	
Compuestos Fenólicos	Cloruro Férrico	
Alcaloides	Dragendorff	
	Mayer	
Taninos	Gelatina – sal	
Saponinas	Prueba de espuma	
Lactosas	Hidroxamato férrico	
Cumarinas	Baljet	
Esteroides	Lieberman – Burchard	
Quinonas	Borntrager	
Resinas	Acetato de cobre 1%	

Fuente: Elaboración Propia.

Abundante cantidad: +++

Moderada cantidad: ++-

Escasa cantidad: +--

Ausencia: ---

ANEXO N° 10: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN DEL EXTRACTO

Sustancia	Dosis		Peso oreja R1	Peso oreja R2	Peso oreja R3	Peso oreja R4	Peso oreja R5	Peso oreja R6	Peso promedio
Extracto etanólico 1	1mg/oreja	T							
		ST							
Extracto etanólico 2	10mg/oreja	T							
		ST							
Extracto etanólico 3	100mg/oreja	T							
		ST							
Estándar (diclofenaco)	0.5mg/oreja	T							
		ST							
Control (Blanco)	-----	T							
		ST							

Fuente .Elaboración propia

El porcentaje de inhibición se define como la acción que contrarresta la inflamación, y matemáticamente se expresa de la siguiente manera. (72)

$$\%Inh = \frac{(Pt - Pnt)_{control} - (Pt - Pnt)_{tratado}}{(Pt - Pnt)_{control}} \times 100$$

Donde:

Pt =Es el peso de la sección de la oreja tratada

Pnt = Es el peso de la sección de la oreja no tratada

ANEXO N° 11: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE INFLAMACIÓN DEL GEL Y EL PARCHES TRANSDÉRMICO

Sustancia		R1	R2	R3	R4	R5	R6	Peso promedio
Blanco	T							
	ST							
Crema	T							
	ST							
Parche Transdérmico	T							
	ST							
Estándar(Diclofenaco)	T							
	ST							

Fuente .Elaboración propia

El porcentaje de inhibición se define como la acción que contrarresta la inflamación, y matemáticamente se expresa de la siguiente manera. (72)

$$\%Inh = \frac{(Pt - Pnt)_{control} - (Pt - Pnt)_{tratado}}{(Pt - Pnt)_{control}} \times 100$$

Donde:

Pt =Es el peso de la sección de la oreja tratada

Pnt = Es el peso de la sección de la oreja no tratada

ANEXO N° 12: DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD DÉRMICA AGUDA MEDIANTE EL TEST DE DRAIZE

En el test de Draize de irritación cutánea se inmoviliza al animal y se aplica la sustancia en la piel afeitada y raída. Las sustancias se mezclan con un compuesto para exagerar la reacción y se aplican sobre la piel o bien se inyectan por vía percutánea, generalmente en conejos o cobayas. El test muestra si la sustancia penetra la piel y causa una reacción alérgica. Es frecuente que se utilicen dosis elevadas de la sustancia, con lo que se sobreestima la sensibilización.

La evaluación de los resultados se evalúa mediante la observación directa a los animales durante un máximo de 14 días en busca de señales de eritema o de edema. Los animales son sacrificados tras la prueba si se determina que esta les causó daños irreversibles en la piel (73).

ANEXO N° 13: DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO MEDIANTE EL MÉTODO DEL EDEMA AGUDO EN OREJA DE RATÓN INDUCIDO POR ACEITE DE CROTON (12-O- TETRADECANOIL FORBOL-13 ACETATO (TPA))

Se sigue la técnica descrita por De Young (1989) modificada por Payá et al. (1992). El TPA es un potente agente flogógeno y promotor de tumores que se encuentra en el aceite de croton (*Croton tiglium* L.). La administración tópica de TPA provoca un edema agudo.

En este modelo de inflamación aguda se administran 2,5 µg/oreja de TPA disueltos en 20 µL de acetona, a razón de 10 µL por cada lado de la oreja del ratón. El edema es máximo 4 h después de la aplicación del agente irritante. Los extractos (1 mg/oreja) y los productos ensayados (0,5 mg/oreja), disueltos en 20 µL de acetona se administran simultáneamente con TPA, a razón de 10 µL a cada lado de la oreja. El fármaco de referencia utilizado es diclofenaco a la dosis de 0,5 mg/oreja. (72)

Se esperará el tiempo necesario para producir la inflamación máxima, luego se procederá al sacrificio de los animales mediante una dislocación cervical y a continuación se cortaran trozos de ambas orejas con un sacabocados de 6 mm de diámetro, los cuales se pesarán individualmente. (72)

Las orejas se pesan después de la inducción de la inflamación por TPA (ambas orejas tratada y no tratada). La diferencia entre estos dos valores determina el edema y la actividad antiinflamatoria. Se evalúa o mide el efecto antiinflamatorio mediante el cálculo del porcentaje de inhibición del edema. (72)

ANEXO N° 14: FOTOGRAFÍAS



FOTOGRAFÍA N° 1: Flor de *Acaulimalva engleriana*.



FOTOGRAFÍA N° 2: Partes aéreas de la especie *Acaulimalva engleriana* recolectadas



FOTOGRAFÍA N° 3: Partes subterráneas (raíces) de la especie *Acaulimalva engleriana*.



FOTOGRAFÍA N° 4: Pesaje de la muestra seca de las raíces de *Acaulimalva engleriana*.



FOTOGRAFÍA N° 5: Maceración de la muestra seca con alcohol al 70%.



FOTOGRAFÍA N° 6: Filtración del extracto etanolico de *Acaulimalva engleriana*.



FOTOGRAFÍA N° 7: Filtrado del extracto etanolico de *Acaulimalva engleriana*.



FOTOGRAFÍA N° 8: Extracción del alcohol de la muestra en el equipo del rotavapor.



FOTOGRAFÍA N° 9: Extracto seco de *Acaulimalva engleriana*.

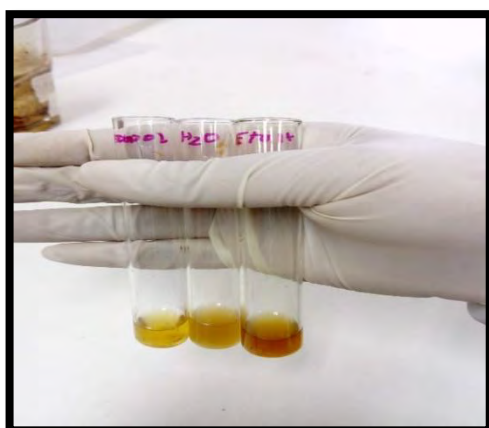
ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE LAS RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)



FOTOGRAFÍA N° 10: Se aprecia las raíces de *Acaulimalva engleriana*, en la estufa para la determinación de porcentaje de humedad.



FOTOGRAFÍA N° 11: Se aprecia un vaso conteniendo el extracto seco de *Acaulimalva engleriana* después de realizado el porcentaje de rendimiento con etanol al 70%.



FOTOGRAFÍA N° 12: Se aprecia las pruebas de solubilidad al extracto de las raíces de *Acaulimalva engleriana*.

DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD DÉRMICA EN COBAYOS ALBINOS
Acaulimalva engleriana (ALTEA).



FOTOGRAFÍA N° 13: Se aprecia tres grupos de cobayos albinos de los cuales se utilizará para toxicidad dérmica



FOTOGRAFÍA N° 14: Se aprecia la identificación de la zona dorsal del cobayo albino a depilar.



FOTOGRAFÍA N° 15: Se aprecia la depilación de la zona dorsal del lado derecho del cobayo albino.



FOTOGRAFÍA N° 16: Se aprecia la aplicación del extracto al 5% de *Acaulimalva engleriana* en la zona dorsal del cobayo albino.



FOTOGRAFÍA N° 17: Se aprecia el cubrimiento de la zona dorsal del cobayo albino con gasa estéril y fijado con un esparadrapo.



FOTOGRAFÍA N° 18: Se aprecia los cobayos albinos ya cubiertos y separados en 3 grupos para las respectivas observaciones que se darán, en diferentes tiempos.

ELABORACIÓN DE LAS DOS FORMAS FARMACÉUTICAS DE APLICACIÓN TÓPICA (GEL Y PARCHE TRANSDÉRMICO)



FOTOGRAFÍA N° 19: Se aprecia los extractos de las raíces de *Acaulimalva engleriana* en diferentes concentraciones.



FOTOGRAFÍA N° 20: Insumos para la elaboración del parche transdérmico.



FOTOGRAFÍA N° 21: Se aprecia la mezcla homogénea en placa Petri, para obtener el parche transdérmico

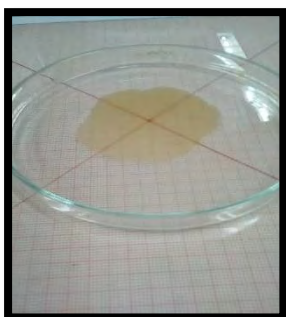


FOTOGRAFÍA N° 22: Se aprecia la mezcla en la placa Petri la cual es colocada en estufa a 40° durante 24 horas



FOTOGRAFÍA N° 23: Se aprecia la obtención del parche transdérmico

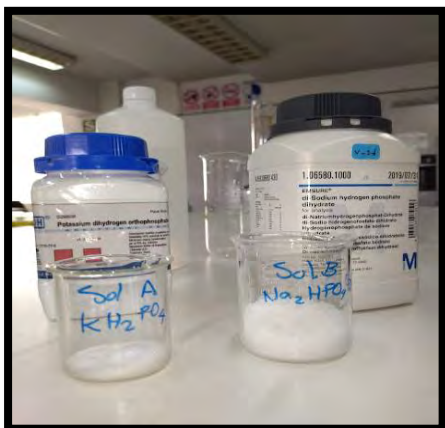
CONTROL DE CALIDAD DE LAS DOS FORMAS FARMACÉUTICAS ELABORADAS GEL Y PARCHES TRANSDÉRMICO



FOTOGRAFÍA N° 24: Se aprecia la prueba de extensibilidad del gel.



FOTOGRAFÍA N° 25: En la imagen se aprecia trozos de parche que se colocaron en un matraz volumétrico de 100mL, se añadió 50mL de disolución tampón de fosfato (pH 7.4) y se conservó en un agitador por el tiempo de 12 horas, para luego determinar el contenido del fármaco.



FOTOGRAFÍA N° 26: Se aprecia los insumos para la preparación del tampón fosfato como solvente para la prueba de disolución.



FOTOGRAFÍA N° 27: Se aprecia la medición del pH (7.4) del tampón fosfato con el equipo del potenciómetro.



FOTOGRAFÍA N° 28: Se aprecia la colocación de los parches en los vasos de dilución.



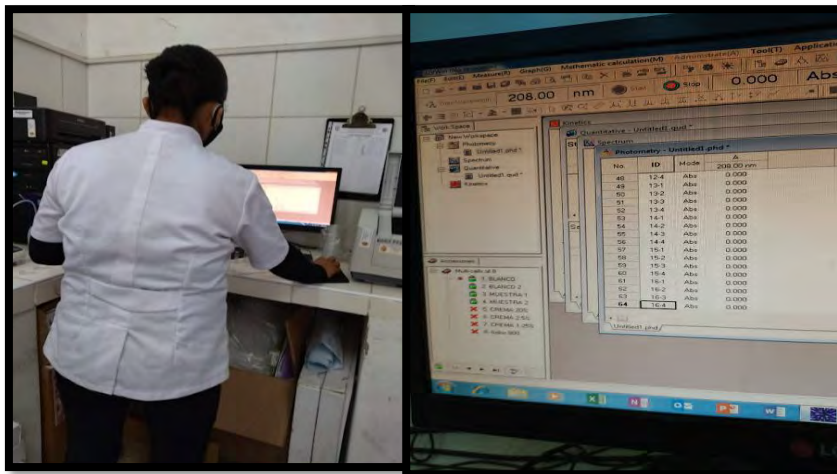
FOTOGRAFÍA N° 29: Se aprecia el proceso de dilución de los parches transdérmicos.



FOTOGRAFÍA N° 30: Se aprecia la aspiración con jeringas de pequeñas alícuotas



FOTOGRAFÍA N° 31: Se aprecia las muestras obtenidas de la disolución del parche transdérmico en las cubetas del espectrofotómetro.



FOTOGRAFÍA N° 32: Se aprecia las absorbancias de cada muestra obtenida para determinar la disolución del fármaco y determinar el contenido de fármaco en un espectrofotómetro.

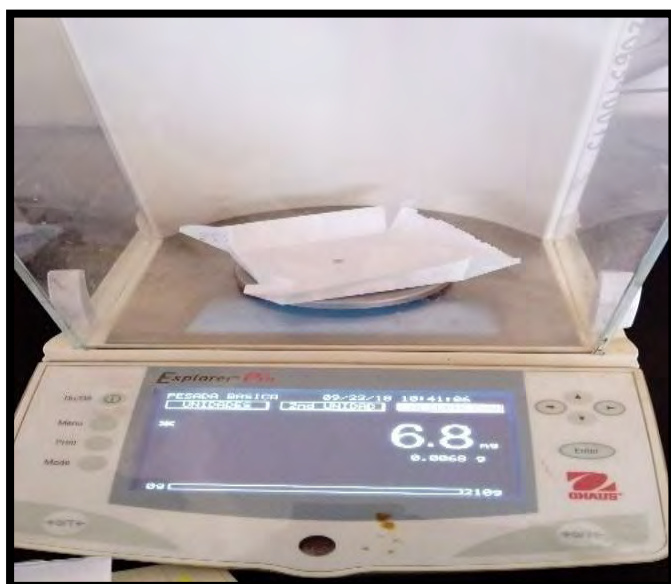
DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍCES DE *Acaulimalva engleriana* (ALTEA)



FOTOGRAFÍA N° 33: Se aprecia el edema auricular inducido por aceite de crotón



FOTOGRAFÍA N° 34: Se aprecia la extracción de las orejas de los ratones con el sacabocado.



FOTOGRAFÍA N° 35: Se aprecia el peso de las orejas de los ratones