



Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

**Proyecto Genérico: Obtención de materias primas, principios activos,
medicamentos y productos biológicos**

Etapas: Diseño y desarrollo de formas farmacéuticas

**Elaboración de una crema con posible efecto cicatrizante a partir de
*Caléndula officinalis***

Presenta

Fernanda Pérez Sosa

Matrícula: 2143024400

Asesor:

M en C. Francisco López Naranjo

Fecha de inicio: 27 de Mayo 2019 Fecha de término: 27 de Noviembre 2019

CDMX Noviembre 2019

Índice

1 Introducción.....	1
1.1 Herbolaria Mexicana.....	1
1.2 <i>Caléndula officinalis</i>	1
1.3 La piel.....	5
1.4 Lesiones de la piel.....	8
1.5 Emulsiones.....	9
2 Objetivos.....	10
2.1 General.....	10
2.2 Específicos.....	10
3 Materiales y Métodos.....	10
3.1 Materias primas.....	10
3.2 Obtención de extractos.....	11
3.3 Elaboración de la emulsión.....	15
4 Resultados y Discusión.....	17
4.1 Cuantificación de flavonoides.....	17
4.2 Cuantificación de fenoles.....	19
4.3 Control organoléptico.....	19
4.4 Control físico-químico.....	20
4.5 Evaluación de la actividad farmacológica de la crema.....	27
4.6 Fotografías de las lesiones en la piel de los usuarios.....	29
5 Conclusiones.....	32
6 Referencias.....	33
7 Anexos.....	35

Lista de figuras

Figura 1. Caléndula officinalis.....	3
Figura 2. Estructura de la epidermis.....	6
Figura 3. Estructura de la dermis.....	7
Figura 4. Estructura de la hipodermis.....	8
Figura 5. Ensayo de Shinoda.....	17
Figura 6. Curva de calibración de flavonoides.....	18
Figura 7. Curva de calibración de fenoles.....	19
Figura 8. Muestra de la emulsión obtenida.....	20
Figura 9. Prueba de homogeneidad.....	20
Figura 10. Ensayo de la gota.....	21
Figura 11. pH.....	21
Figura 12. Preparación de la prueba microscópica.....	22
Figura 13. Prueba microscópica.....	23
Figura 14. Homogeneidad muestra 1.....	23
Figura 15. Ensayo de la gota muestra 1.....	24
Figura 16. Prueba de Homogeneidad muestra 2.....	25
Figura 17. Ensayo de la gota muestra 2.....	25
Figura 18. Prueba de Homogeneidad muestra 3.....	26
Figura 19. Ensayo de la gota muestra 3.....	26

Lista de tablas

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la Caléndula.....	2
Tabla 2. Materiales utilizados en la elaboración del producto.....	11
Tabla 3. Preparación de estándares para cuantificación de flavonoides.....	13
Tabla 4. Preparación de estándares para cuantificación de fenoles.....	14
Tabla 5. Formulación de la emulsión.....	15
Tabla 6. Valores de absorbancia de flavonoides.....	18
Tabla 7. Resultados de la prueba de extensibilidad.....	22
Tabla 8. Pruebas organolépticas muestra 1.....	23
Tabla 9. Resultados Extensibilidad muestra 1.....	24
Tabla 10. Pruebas organolépticas muestra 2.....	24
Tabla 11. Resultados Extensibilidad muestra 2.....	25
Tabla 12. Pruebas organolépticas muestra 3.....	26
Tabla 13. Resultados Extensibilidad muestra 3.....	27

I. Introducción

El uso de plantas medicinales es tan antiguo como el hombre mismo. Sin embargo, recientemente el interés de los consumidores en productos con base en productos naturales ha ido en aumento debido a las excelentes propiedades médicas que tienen las plantas y productos naturales en general, además porque se consideran menos tóxicos y producen menos efectos secundarios.

Nuestro país ocupa el segundo lugar a nivel mundial en el número de plantas medicinales registradas, y esta riqueza en herbolaria permite el diseño y desarrollo de nuevos productos farmacéuticos a base de extractos vegetales.

El presente trabajo busca crear una forma farmacéutica de uso tópico con una posible actividad cicatrizante a partir del extracto de ***Caléndula officinalis***, planta perteneciente a la familia de las asteráceas a la cual se le atribuye una diversa variedad de actividades farmacológicas. Para lograrlo se empieza por la identificación de la planta en el herbario de la universidad y posteriormente se procede a la obtención del extracto vegetal que será agregado a la formulación final, la cual se someterá a diversas pruebas farmacopeicas para evaluar su calidad y estabilidad.

Herbolaria mexicana

El uso de plantas medicinales es tan antiguo como el hombre mismo. Su origen se remonta a cientos de años atrás, cuando el hombre comenzó a experimentar la necesidad de encontrar remedios y curas a algunas afecciones que padecía. Así, llega al descubrimiento de que ciertas plantas podían aliviar algunos síntomas, e incluso curar enfermedades. Gracias al estudio que los primeros herbolarios consiguieron realizar sobre diversas plantas, hoy por hoy, podemos usar determinados medicamentos o tratamientos con base en componentes que provienen directamente de la naturaleza¹.

México ocupa el segundo lugar a nivel mundial en el número de plantas medicinales registradas con 4,500 plantas. Al menos el 1% de toda la herbolaria mundial se ha usado para desarrollar todos los medicamentos en el mundo².

La herbolaría aún al día de hoy supone y aporta una importante fuente de conocimiento para nuevos medicamentos y tratamientos; y es que siempre existen enfermedades nuevas, y siempre hay nuevas plantas o nuevos estudios sobre las mismas que pueden ofrecer alguna cura eficaz¹.

Caléndula officinalis

La ***Caléndula officinalis*** es una planta herbácea y aromática, perteneciente a la familia de las asteráceas³, (tabla 1). El tallo mide de 20 a 55 cm de altura, es erguido, ramificado y generalmente con hojas casi hasta el extremo superior.

La clasificación etnobotánica se realizó en el herbario de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco por la Maestra en Ciencias Beatriz González Hidalgo.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de **Caléndula officinalis**

Taxonomía	
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Familia	Asteráceas
Genero	<i>Caléndula</i>
Especie	<i>C. officinalis</i>

Sus hojas son alternas, simples, estrechamente obovadas, oblongas o espatuladas. Las flores son liguladas y amarillas, (figura 1), con una floración que dura prácticamente todo el año, cerrándose de noche y abriéndose al amanecer³. Las inflorescencias en capítulos de 3 a 5 cm de ancho, de un color amarillo anaranjado. Los frutos son aquenios encorvados, provistos casi todos en el dorso de unas alas membranosas o púas dorsales que alternan con otros cimbitiformes más cortos, de forma navicular. El olor que desprenden las flores es desagradable y su sabor es amargo³.



Figura 1. *Caléndula officinalis*

Origen

Originaria del sur de Europa meridional y del Oriente.

Cultivo

Poco exigente respecto al tipo de suelo, aunque prefiere los arcillosos. Es una planta de clima templado, pero resiste heladas y sequías. Cultivada en Europa desde el siglo XII, existe localmente naturalizada en el sur y oeste de Europa³.

Usos medicinales

La caléndula posee propiedades antiinflamatorias, antieméticas, antisépticas, es también antiespasmódica, antibacteriana, fungicida, cicatrizante y anti ulcerosa, además ha sido utilizada para la prevención y eliminación de estrías.

En medicina popular se utiliza por su acción antibacteriana, fungicida y antiespasmódica⁴. Se considera también emenagoga, como regulador y calmante de los dolores menstruales. Es un buen emoliente ya que suaviza, tonifica e hidrata la piel.

También se ha considerado callicida ayudando a la desaparición de verrugas víricas de la piel, debido a su contenido en ácido acetilsalicílico. Es colerético estimulando la actividad hepática, especialmente la secreción biliar. También resulta eficaz en gastritis, gastroenteritis y vómitos por su acción anti ulcerosa dado que ayuda a la cicatrización de úlceras gástricas

La flor de caléndula tiene una acción antiinflamatoria y fuertemente cicatrizante cuando se aplica de forma tópica. Con extractos de la flor de caléndula, muestra una acción estimulante de la epitelización de las heridas y una actividad antiinflamatoria en edemas donde interviene la prostaglandina (los triterpenos, sobre todo el faradiol, han demostrado ser los principios antiinflamatorios más importantes)⁵. Las partes de la planta utilizadas en la medicina tradicional son las flores y las hojas⁶.

Formas de uso recomendadas popularmente

Decocción, infusión, tintura, jugo, crema, ungüento, loción para el cutis y extracto líquido⁷.

Recolección y secado

La recolección se hace a mano. Los pétalos se secan a la sombra o a cielo abierto a una temperatura máxima de 35°C para conservar su color y propiedades. Se conserva herméticamente tapada. Las cabezuelas de color naranja oscuro son las mejores para medicina natural, ya que contienen más altas concentraciones de las sustancias activas⁶.

Sustancias químicas

Las flores de caléndula presentan un amplio espectro de tipos de compuestos químicos, lo cual está en concordancia con la diversidad de acciones farmacológicas que presenta la planta. Entre los compuestos más investigados dado su interés farmacológico están los carotenoides y los flavonoides³.

Así tenemos que se plantea un contenido de 0,078 y 0,017 % de carotenoides totales en las flores liguladas y en los receptáculos respectivamente. En relación con los flavonoides se plantea un contenido de 0,88 y 0,33 % de flavonoides totales en las flores ligadas y receptáculos respectivamente³.

Métodos de obtención

Los métodos tradicionales para la extracción de componentes bioactivos desde plantas, incluyen: la destilación por vapor y la extracción con solventes orgánicos tales como: acetona, éter de petróleo, benceno, hexano, éter dietílico, cloroformo, etanol y metanol. Los principales parámetros para la selección de una tecnología de extracción son: las características bioquímicas de las moléculas extraídas, la rapidez, la limitación del uso de solventes, reproducibilidad, rendimiento de la extracción, la selectividad, la protección de las moléculas extraídas para que no sufran transformación química y el costo⁸.

La ***caléndula officinalis*** posee en su extracto una actividad cicatrizante mayormente eficaz cuando se aplica de forma tópica, por lo que es importante mencionar qué es la piel y las posibles lesiones que puede sufrir.

La piel

Es el órgano más extenso del cuerpo, conforma la capa límite exterior entre el ser humano y el medio ambiente, actúa por una parte como barrera de las agresiones externas, y por otra como enlace estableciendo relaciones sensoriales entre el mundo exterior y los órganos internos. La piel es un órgano destinado a mantener la forma del cuerpo, surge en los primeros días de la vida del embrión humano, en pocas semanas las células que se están multiplicando para formar los distintos tejidos se distribuyen en tres estratos, llamados "hojas embrionarias". Del primero se tornarán todos los órganos internos (endoderino) y del segundo los músculos, el esqueleto, tejido adiposo y tejido conectivo (mesodermo). De la tercera hoja (ectodermo) se origina el sistema nervioso y el revestimiento del organismo y las mucosas. La maduración de la piel sólo termina con el nacimiento, aunque sigue perfeccionándose también después⁹.

Funciones de la piel

Termorregulación. La piel Regula la temperatura corporal a través de las glándulas sudoríparas y la irrigación sanguínea en tejido adiposo subcutáneo actúa como una capa aislante. En respuesta a un incremento de la temperatura ambiental o al ejercicio extenuante, la producción de la transpiración por las glándulas ayuda a disminuir la temperatura o el calor corporal hasta el nivel normal, los cambios en el flujo sanguíneo hacia la piel también alteran las propiedades de aislamiento y ayuda a equilibrar la temperatura corporal.

Protección. La piel es una barrera semipermeable que posee una película superficial en la capa córnea que protege los tejidos subyacentes de la abrasión, bacterias, deshidratación y radiación UV.

Recepción de estímulos. La piel contiene numerosas terminaciones y receptores nerviosos que detectan los estímulos relacionados con temperatura, tacto, presión y dolor.

Excreción. Para eliminar las impurezas la piel dispone de glándulas sudoríparas que cumplen la función de eliminar parte del material de desecho de las células como el sudor.

Con su acción, se libera agua, sales, algunos minerales y también algunas sustancias tóxicas. Esta función de la piel es paralela a la de los riñones y de los pulmones.

Queratogenesis. Función de la piel para la formación de queratina.

Melanogenesis. Función de la piel para la formación de la melanina⁹.

Estructura histológica de la piel

La piel está constituida por tres capas horizontales desde el exterior hacia el interior: la epidermis, la dermis y la hipodermis.

Epidermis. Es una delgada capa de células que constituye la parte más externa de la piel. Está constituida por diversos tipos de células, donde del 90 al 95% son queratinocitos. Es un tejido avascular y su cuidado y mantenimiento se realiza por medio de la difusión de sustancias nutritivas desde el lecho capilar de la dermis. La epidermis limita la entrada de productos químicos de la superficie de la piel a la dermis y tejidos más bajos. Es más gruesa en determinadas áreas como en la palma de las manos y plantas de los pies. Sus células se mudan constantemente. La subcapa más externa de la epidermis es el estrato córneo que está formado por células queratinizadas biológicamente inactivas que tienen un empaqueo muy denso¹⁰.

La epidermis está compuesta por varios estratos, tal como se muestra en la figura 2 y algunos de sus componentes celulares son: los queratinocitos, quienes están capacitados para la regeneración de la epidermis y la síntesis de la proteína conocida como queratina; los melanocitos, los cuales tienen como función sintetizar melanina, dar el color y pigmentación de la piel y además determinar la respuesta del individuo a la luz solar¹⁰.

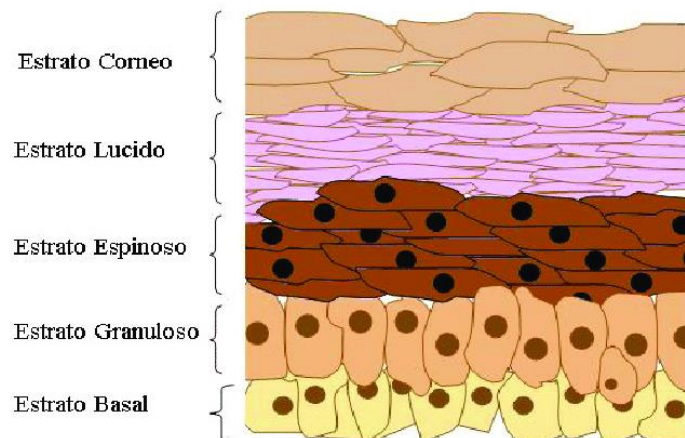


Figura 2. Estructura de la epidermis.

Dermis. Tejido conjuntivo vascularizado y con abundantes terminaciones nerviosas, que histológicamente se subdivide en dos capas o estratos, constituye la mayor parte de la piel. Las funciones principales de la dermis son: inmunológicas, protección mecánica, termorregulación, retención de agua y elasticidad. Esta capa le ofrece la elasticidad a la piel para que pueda adaptarse a los diferentes movimientos y fluctuaciones de volumen del organismo. Además se encuentra capacitada, dentro de un proceso dinámico, para absorber agua y volver a expelerla. La dermis está compuesta básicamente de colágeno y elastina, como se muestra en la figura 3, y las fibras colágenas se distribuyen en todas las direcciones, sin embargo se orientan preponderantemente en dirección oblicua a la epidermis o paralelas a la superficie corporal. Esta parte de la piel se encarga de la reacción ante cualquier inflamación o alergia que el individuo pueda tener por medio de una sustancia conocida como histamina, además de la defensa e inmunidad contra microorganismos por parte de los leucocitos o glóbulos blancos¹⁰.

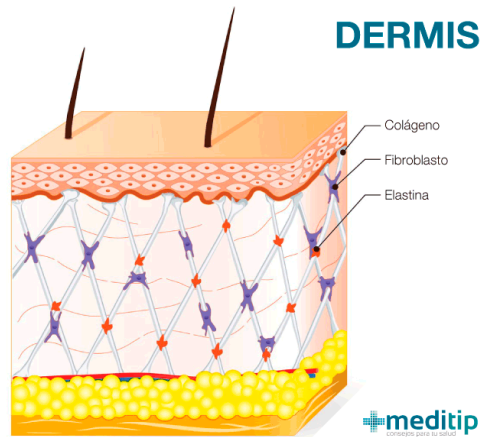


Figura 3. Estructura de la dermis

Hipodermis. Representa el estrato más profundo de la capa corporal exterior. También se llama tejido celular subcutáneo o panículo adiposo. La grasa forma un tejido metabólico muy activo que además protege al organismo (figura 4).

La proporción del tejido adiposo es variable según su localización; donde es más abundante se le denomina panículo adiposo y sirve principalmente como amortiguador contra traumas. Las principales funciones de esta capa de la piel son: termorregulación, amortiguación de traumatismos, reservas de calorías, y participación en el mecanismo hídrico y graso¹⁰.

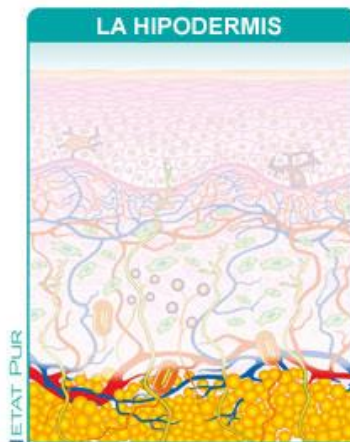


Figura 4. Hipodermis

Lesiones elementales de la piel.

Las lesiones elementales de la piel se dividen en primarias y secundarias. Las lesiones primarias son las que aparecen sobre la piel previamente sana, mientras que las lesiones secundarias se producen por una agresión externa sobre la piel o como consecuencia de la evolución de las primarias¹¹.

Lesiones primarias sólidas

Mácula: es una mancha o cambio de coloración de la piel sin relieve ni cambio de textura, por lo que no es palpable. Puede ser eritematosa, cuando es debida a inflamación o dilatación vascular; purpúrica, cuando ocurre por extravasación hemática; hiper-pigmentada, por aumento de melanina o por depósito de pigmentos exógenos; hipo-pigmentada, por ausencia o disminución de pigmento melánico.

Pápula: elevación circunscrita y palpable de la piel, de menos de 1 cm de diámetro. Es debida a un aumento del componente celular o estromal de la dermis o de la epidermis. Cuando el diámetro es mayor de 1 cm se denomina placa.

Nódulo: es una lesión que se identifica por palpación, sólida, redondeada, que puede originarse en epidermis, dermis o tejido celular subcutáneo y que no necesariamente produce una elevación de la piel.

Habón o Roncha: es una pápula o placa rosada, pruriginosa y edematosa de poco relieve cuya característica fundamental es su evanescencia, desapareciendo en menos de 24 horas. Es debida a la presencia de edema en la dermis superficial. Es característica de la urticaria¹².

Lesiones secundarias con solución de continuidad

Erosión: pérdida de parte superficial de la epidermis que se regenera (cura) sin dejar cicatriz. Cuando es secundaria al rascado con las uñas se denomina excoriación.

Úlcera: pérdida de epidermis y parte de la dermis o hipodermis, deja cicatriz al curar. Al describir una úlcera se ha de especificar las características de los bordes, la base o fondo y su contenido.

Fisura: hendidura o corte lineal que llega a dermis superficial, se denomina también grieta¹².

Lesiones secundarias a procesos reparativos

Atrofia: disminución o ausencia de alguno de los componentes fisio-anatómicos de la piel.

Cicatriz: aparece como resultado de la reparación natural, por la pérdida de sustancia de la piel que ha llegado a la dermis¹².

Existen diversos productos farmacéuticos de uso tópico que se pueden aplicar sobre determinadas lesiones para disminuirlas o incluso eliminarlas, entre las principales formas farmacéuticas tópicas se encuentran las emulsiones.

Emulsiones

Una emulsión es una dispersión de un líquido en otro con el que es inmisible. El tamaño de las partículas de la fase dispersa puede oscilar entre unos cientos de nanómetros y unos pocos micrómetros. Para ser estables, las emulsiones requieren la presencia de un tercer componente, el agente emulsificante. Las emulsiones pueden ser de dos tipos: gotas de agua dispersas en aceite que se designan W/O, y gotas de aceite dispersas en agua O/W. Un ejemplo típico de O/W es la leche, y de W/O, la mantequilla. Cuando una emulsión de un tipo se transforma en el otro se dice que cambia de signo y el proceso se denomina “inmersión”.

Si una emulsión se separa en sus dos fases por coalescencia de las gotas se dice que se “rompe”. A causa de una diferencia de densidad, la fase dispersa puede ascender o descender en la externa, lo cual se denomina “formación de cremas”; éste es un proceso diferente a la rotura de la emulsión¹³.

II. Objetivos

General:

- Elaborar una crema con efecto cicatrizante a partir de ***Caléndula officinalis***

Específicos:

- Identificar la planta de acuerdo a sus características etnobotánicas
- Obtener el extracto a partir del material vegetal
- Realizar la formulación que se empleará en la crema
- Evaluar la actividad del producto por medio de fotografías
- Realizar una comparación con una marca comercial

III. Materiales y métodos.

Descripción de las materias primas empleadas en la elaboración de la emulsión.

Acido esteárico: Es un ácido graso ampliamente utilizado en las formulaciones de productos cosméticos. En las cremas, una porción está emulsionado y el resto se encuentra en forma libre. La proporción total varía del 1% al 20%, dependiendo de la consistencia del producto. Se deposita en la piel en una capa delgada no muy grasosa.

Alcohol cetílico: Se usa como emulsionante auxiliar, agente espesante, estabilizador de emulsiones y agente suspensor de pigmentos. Resulta muy bien tolerado por la piel, a la que le confiere flexibilidad y suavidad.

Emulgin B2. Es un emulsionante no iónico y como tal se incorpora en la fase grasa en la elaboración de cremas cosméticas y emulsiones especialmente fluidas, proporcionándoles estabilidad y un elevado grado de finura.

Glicerina: Se usa diluida en agua para causar de esta forma una acción muy favorable sobre la piel, suavizándola y formando una película protectora.

Lanolina: Tiene propiedades hidrófilas, emolientes y carácter de tensoactivo no iónico. Se usa principalmente como emulsionante y emoliente. Es una sustancia aceitosa segregada por las glándulas sebáceas de los animales que producen lana. De composición química similar a la de la cera, se emplea como impermeabilizante y como tratamiento para la piel. Está compuesta principalmente por colesterol y ésteres de varios ácidos grasos. La forma sin refinar contiene varios alcoholes, que se eliminan para producir la lanolina de grado medicinal. Se utiliza como cubierta para prevenir la oxidación de materiales metálicos, o para prevenir las adherencias. La forma refinada, hipoalérgica, se utiliza para afecciones de la piel, como eczemas, irritaciones, pequeñas quemaduras, o como base de ungüentos.

Miristato de isopropilo: Producto muy fluido, inodoro y claro como el agua. La baja viscosidad y excelente capacidad de extensión le confieren un intensivo efecto engrasante para la piel y cabello, sin resultar muy graso ni pegajoso. Esta sustancia muestra un excelente poder disolvente en principios activos liposolubles para los cuales puede emplearse como vehículo. Este producto se deja emulsionar fácilmente y las cremas y leches resultantes se dispersan bien por la piel y poseen buena estabilidad al calor. Posee propiedades emolientes, espesantes y reengrasantes, y está libre de propiedades irritantes y sensibilizantes. Se utiliza en la preparación de cremas, ungüentos, emulsiones y aceites de baño.

Nipagin (metilparabeno): Es uno de los conservantes más ampliamente usados, efectivo principalmente contra hongos y bacterias Gram-positivas. Se recomienda en dosis del 0,001% al 0,2%.

Vaselina: Es un derivado del petróleo ampliamente utilizado en cosmética debido a que posee propiedades emolientes, protectoras y oclusivas¹⁴.

Los materiales se enlistan en la siguiente tabla

Tabla 2. Materiales utilizados durante la elaboración de la emulsión

2	Vaso de precipitados 250mL		Papel filtro
1	Parrilla	1	Termómetro
2	Embudo Buchner	1	Baño maría
2	Matraz kitasato	2	Varilla de vidrio
1	Mangueras	1	Vaso de precipitados 500mL

Metodología

1. Obtención de los extractos naturales

Extracto oleoso de caléndula: A 25 gramos de flores de caléndula secas se les adicionó 250mL de solvente (aceite mineral). Se calentó durante 20 minutos a 60°C, se dejó reposar por 20 minutos y posteriormente se filtró, envasó y rotuló¹⁴.

Extracto de Aloe Vera. Se obtuvieron los cristales de la penca sábila y se licuaron hasta lograr una consistencia adecuada. La solución obtenida se calentó hasta 60°C y se dejó a esta temperatura por 20 minutos, con el fin de inactivar las enzimas que causan la oxidación. Posteriormente, se retiró del calor y se filtró. Al extracto obtenido se le adicionó 0.2% de ácido cítrico como antioxidante y 0.5% de Nipagin como conservante. Luego, se envasó, rotuló y refrigeró para una mejor conservación¹⁴.

Diagrama de flujo para la obtención de los extractos



Al extracto de Caléndula obtenido se le realizó una serie de ensayos y pruebas para confirmar la presencia de los bioactivos de interés (flavonoides y fenoles). Las pruebas realizadas se describen a continuación. Una vez identificados los bioactivos se procedió a la elaboración del producto.

1.1 Método de identificación de flavonoides a partir del extracto

Ensayo de Shinoda

En un tubo de ensayo se agregó 0.5mL de extracto de caléndula, seguido de una granalla de zinc y 0.2mL de HCl concentrado, se dejó reposar hasta la disolución del zinc y posteriormente se adicionó 0.2mL de alcohol amílico y 0.2mL de agua destilada.

1.2 Método de cuantificación de flavonoides a partir del extracto

Curva de calibración

Se utilizó una solución estándar de catequina (0.1mg/ml) de la cual se tomaron volúmenes de 0 a 100 μ L, en intervalos de 20 μ L.

A cada uno de los estándares se les adicionó 1250 μ L de agua destilada y 75 μ L de NaNO₂ al 5%, se dejó reposar por 6 minutos y posteriormente se les agregó 150 μ L de AlCl₃ al 10% y se dejó reposar 5 minutos más. Por último se adicionó 500 μ L de NaOH 1M y se completó el volumen de cada estándar hasta 2.5mL con agua destilada.

La absorbancia fue medida a 510nm inmediatamente antes de 30 minutos. Los resultados fueron expresados en mg de catequina por g de extracto.

Tabla 3. Preparación de los estándares para la curva para identificar flavonoides

Tubo	Catequina (µL)	Agua (µL)	NaNO₂ (µL)	AlCl₃ (µL)	NaOH (µL)
1	0	1250	75	150	500
2	20	1250	75	150	500
3	40	1250	75	150	500
4	60	1250	75	150	500
5	80	1250	75	150	500
6	100	1250	75	150	500

1.3 Método 2 de cuantificación de flavonoides a partir del extracto

Otro de los métodos utilizados para la cuantificación de flavonoides totales presentes en el extracto de Caléndula fue el descrito por Edmundo Venegas (2012) en su artículo titulado “Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis* L. y su capacidad antioxidante”. El cual consistió en un tratamiento al extracto vegetal con ácido sulfúrico y etanol, tal como se explica a continuación¹⁵.

Preparación de la muestra.

Se agregó 0.5mL de extracto vegetal a 40mL de solución de ácido sulfúrico al 10% y 40 mL de etanol al 50% y se llevó a reflujo durante 2 horas. Luego, se enfrió y filtró al vacío. El residuo se lavó con 10mL de etanol al 50%, para desecharlo finalmente.

El filtrado se concentró en rotavapor hasta la mitad del volumen inicial y después se enfrió sobre un baño de hielo. La solución obtenida se leyó en un espectrofotómetro UV a una longitud de 258nm.

Preparación del estándar.

El blanco consistió en una solución de etanol. Como patrón se empleó 0.08g de quercetina, los cuales se disolvieron en etanol hasta completar un volumen de 100mL; lo cual representó la solución madre, de esta solución se tomó 1mL y se aforó a 100mL con etanol. Posteriormente se realizó la lectura a una longitud de onda de 258nm en el espectrofotómetro¹⁵.

La fórmula empleada para el cálculo es la siguiente:

$$x = \frac{Am \times Pr \times 5}{Ar} \times 100$$

Donde

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

Am = absorbancia de la solución muestra (nm)

Pr = peso de la sustancia de referencia (g)

Ar = absorbancia de la solución de referencia (nm)

1.4 Método de cuantificación de fenoles a partir del extracto

La concentración de fenoles totales en el extracto fue medida por espectrofotometría, basándose en una reacción colorimétrica de óxido-reducción. El agente oxidante utilizado fue el reactivo de Folin-Ciocalteu.

Curva de calibración

Se utilizó una solución estándar de fenol (50mg/L), de la cual se tomaron volúmenes de 0 a 1mL, posteriormente se adicionó agua destilada a cada estándar, seguido del reactivo de carbonato/tartrato y finalmente se agregó el reactivo de Folin-Ciocalteu. Los volúmenes exactos se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Preparación de los estándares para la curva de identificación de fenoles

Tubos	Solución patrón (ml)	Agua dest (ml)	Carbonato /tartrato (ml)	Reactivo Folin (ml)	Concentración
Blanco	0	25	2	1.5	0
1	0.05	24.95	2	1.5	0.25
2	0.1	24.9	2	1.5	0.5
3	0.2	24.8	2	1.5	1
4	0.7	24.3	2	1.5	3.5
5	1	24	2	1.5	5
Muestra	0	15	2	1.5	

2. Pesaje de los compuestos para la elaboración de la emulsión

Cada una de las materias primas se pesó de acuerdo a la formulación planteada en la siguiente tabla

Tabla 5. Formulación de la crema.

Fases	Componentes	Cantidad utilizada (g)
1	Miristato de isopropilo	4.5
	Emulgin B2	3.75
	Alcohol cetílico	8.75
	Lanolina	1.5
	Vaselina	2.5
	Ácido esteárico	8.75
	Extracto de caléndula	12.5
2	Glicerina	7.5
	Nipagin	0.25
	Extracto de aloe	7.5
	Agua	cbp 250

3. Preparación de fases acuosa y oleosa

Se mezclaron los componentes de las fases 1 y 2 según la tabla, en recipientes distintos y se calentaron hasta 65°C, aproximadamente, hasta que se formó un líquido homogéneo.

4. Mezclado y agitación

Una vez que ambas fases se encontraron en el estado adecuado y a temperaturas iguales, se agregó la fase oleosa sobre la acuosa para formar la emulsión.

La agitación durante esta etapa es fundamental para asegurar la obtención de un buen producto.

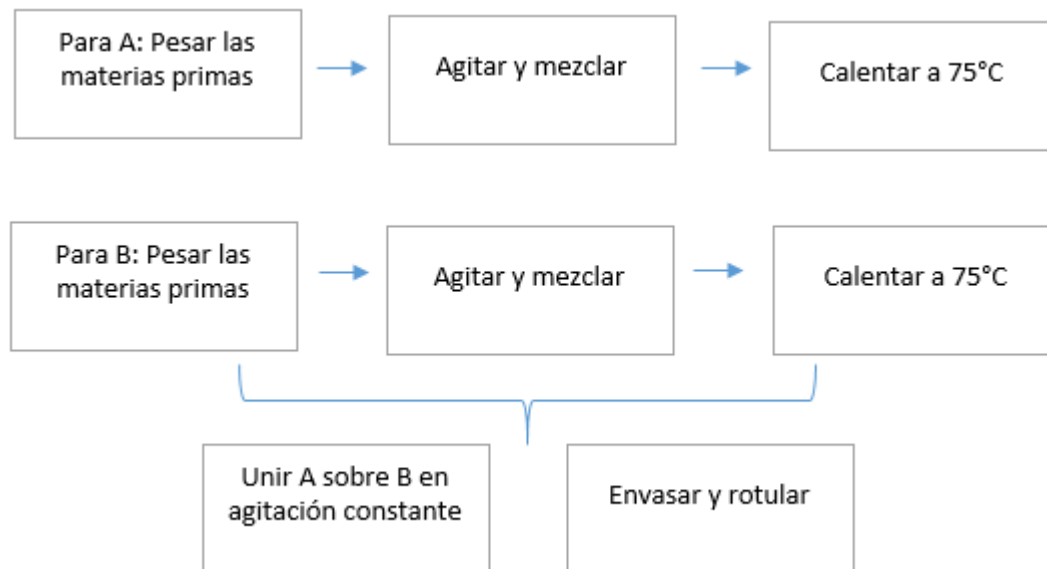
5. Ajuste de pH

El pH se ajustó entre 5 y 6 empleando ácido cítrico

6. Envasado

La emulsión obtenida se dejó enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se envasó en recipientes de 60 gramos, aproximadamente.

Diagrama de flujo para la elaboración de la crema



7. Pruebas de control de calidad y estabilidad

Se realizaron las pruebas de calidad establecidas en la farmacopea. Se inició con las pruebas organolépticas las cuales consistieron en observar el aspecto, olor, color y textura de la emulsión para después continuar con la prueba de homogeneidad, el ensayo de la gota, extensibilidad y la prueba microscópica para la determinación de fases.

7.1 Prueba de homogeneidad

Se realizó una extensión de una muestra de la emulsión sobre un portaobjetos y se situó encima de una superficie negra, procediendo a su visualización mediante una lupa. Mediante este ensayo se puede detectar la existencia de posibles burbujas de aire.

7.2 Ensayo de la gota

Una pequeña porción de la emulsión se agregó en un vaso de precipitados con aproximadamente 30 mL de agua destilada. Posteriormente se agitó y se observó el comportamiento de la emulsión.

Si la porción añadida difunde en el agua, la emulsión es de fase externa acuosa (o/w). Si la porción no difunde y se queda en la superficie del agua, la emulsión es de fase externa oleosa (w/o).

7.3 Extensibilidad

Se colocó en un portaobjetos una pequeña cantidad de emulsión y éste se situó encima de un papel milimetrado; sobre dicho portaobjetos, se colocó otro suavemente y de peso conocido, se esperó 1 minuto y se anotó el radio del círculo formado. Se sigue el mismo procedimiento, siempre a intervalos de 1 minuto utilizando pesos crecientes (100g, 200g, 300g y 500g). Con los radios obtenidos se calcularon las superficies correspondientes.

7.4 Prueba microscópica para la determinación de fases

Se colocó una gota de la emulsión sobre un portaobjetos e inmediatamente después se agregó una gota de colorante rojo acuoso, posteriormente se colocó un segundo portaobjetos para cubrir la muestra y se procedió a su visualización a través de un microscopio.

IV. Resultados y Discusión

Ensayo de Shinoda. El cambio de coloración en el extracto indica presencia de flavonoides. Según Martínez y García (2007), el magnesio metálico es oxidado por el HCl concentrado, dando como productos H_2 , el cual es eliminado en forma de gas, y $MgCl_2$, el cual forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características. De acuerdo a Vázquez (2015), el ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, rosa o rojo.

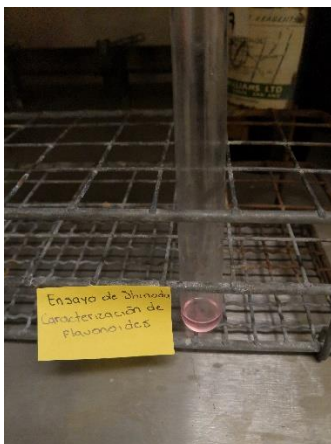


Figura 5. Ensayo de Shinoda.

Método de cuantificación de flavonoides

La curva de calibración para la cuantificación de flavonoides utilizando una solución de catequina como estándar se realizó por triplicado y a continuación se muestra el promedio obtenido. El coeficiente de correlación promedio obtenido fue de 0.9997, lo cual indica linealidad.

Para obtener la concentración de flavonoides presentes en el extracto de caléndula se utilizó la ecuación de la recta y el resultado obtenido fue de 0.313 mg.

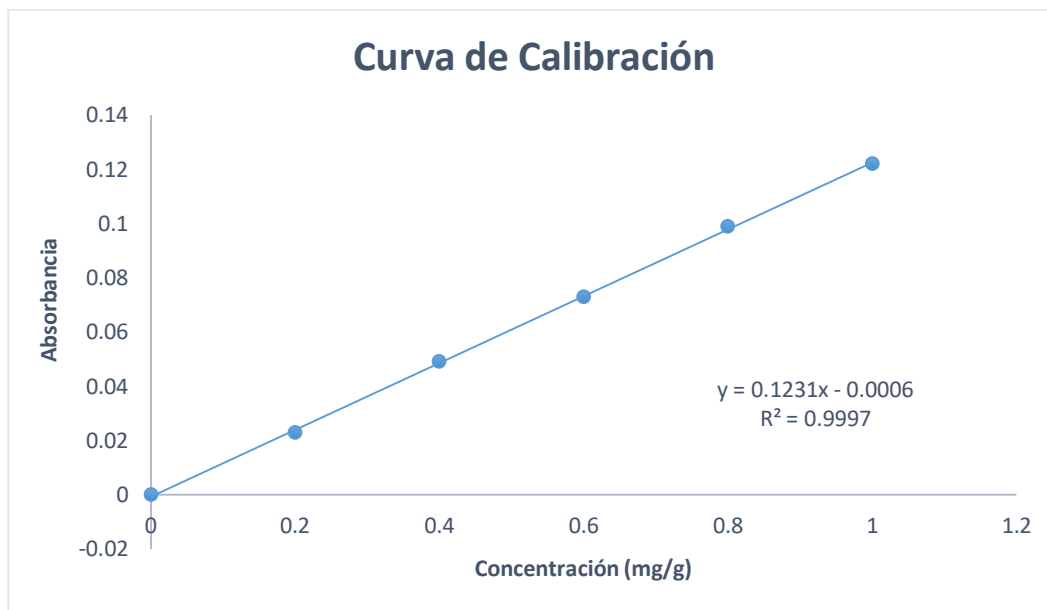


Figura 6. Curva de calibración usando catequina como estándar a 510nm

Método 2 de cuantificación de flavonoides totales en extracto vegetal

Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla

Tabla 6. Absorbancia de las muestras para la cuantificación de flavonoides totales

Muestra	Absorbancia
Solución de referencia	0.586
Extracto de caléndula	0.253

Sustituir en la fórmula

$$x = \frac{0.253 \times 0.08 \times 5}{0.586} \times 100$$

El porcentaje de flavonoides totales presentes en el extracto de caléndula fue de 17.27%. Según Venegas (2012), los métodos de extracción como la decocción, infusión o destilación, arrojan como resultado una concentración más alta de bioactivos debido a que permiten que el disolvente permanezca en contacto con el material vegetal durante más tiempo aún después de la ebullición. El método utilizado para la obtención del extracto fue la infusión lo cual está en concordancia con lo que menciona Venegas en su artículo ya que se obtuvo una concentración alta de flavonoides.

Método de cuantificación de fenoles

La curva de calibración para la identificación de fenoles se realizó por triplicado y a continuación se muestran los resultados obtenidos. Como se puede observar en la figura 7, el coeficiente de correlación obtenido fue de 0.9998, lo cual indica linealidad. Para obtener la concentración de fenoles presentes en el extracto de Caléndula se utilizó la ecuación de la recta y el resultado obtenido fue de 2.20mg. Cabe recalcar que la concentración de fenoles en el extracto es considerablemente mayor a la concentración de flavonoides, lo cual concuerda con Gracia (2013), quien en su artículo denominado “*Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales*”, menciona que es de esperarse que la concentración de flavonoides sea menor a la de fenoles debido a que los primeros son un subgrupo de los compuestos fenólicos. De acuerdo a los resultados obtenidos en los métodos de cuantificación, se puede confirmar la presencia de flavonoides y fenoles en el extracto oleoso de Caléndula.

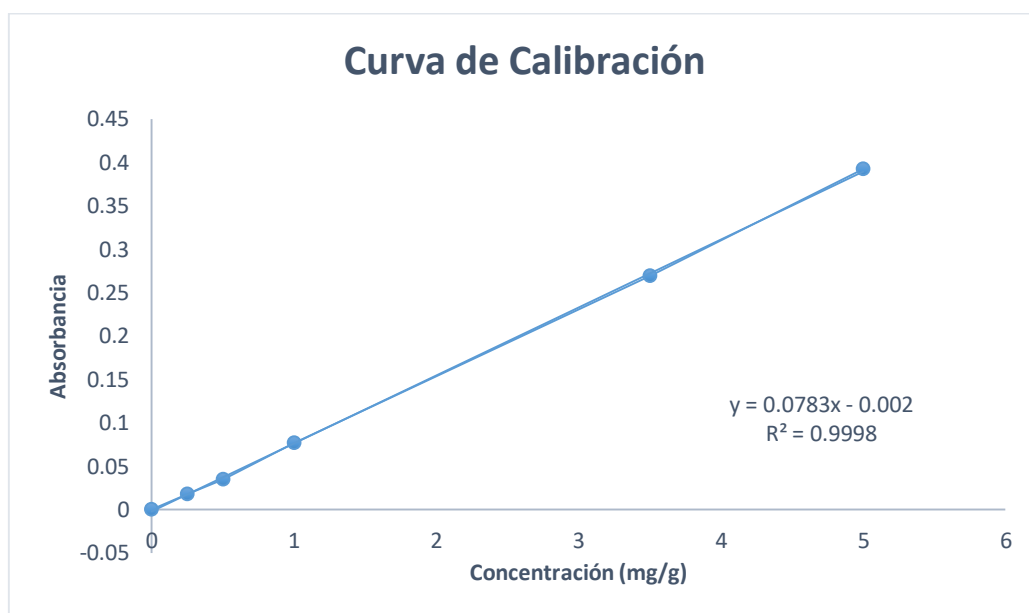


Figura 7. Curva de calibración utilizando solución fenólica como estándar a 700nm

Control organoléptico

Aspecto y textura. Se obtuvo una emulsión de aspecto agradable y que presenta un fácil desplazamiento sobre la piel.

Olor. Durante el proceso de elaboración se adicionó esencia a la emulsión para compensar el olor del extracto de Caléndula.

Color. Se obtuvo un color agradable a la vista.

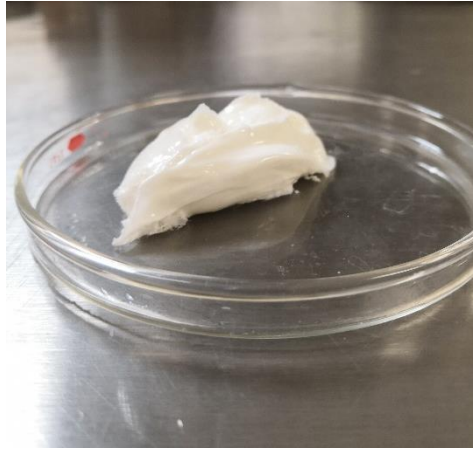


Figura 8. Muestra de la crema obtenida

Las propiedades organolépticas de cualquier producto son de suma importancia debido a que según Cárdenas (2007), son éstas las que garantizan una buena aceptación por parte del usuario.

Control fisicoquímico

Homogeneidad. Al realizar una extensión de una pequeña muestra de la emulsión sobre un portaobjetos, ésta se observa uniforme y sin presencia de burbujas, ni sólidos dispersos, lo cual nos indica que es una emulsión homogénea.

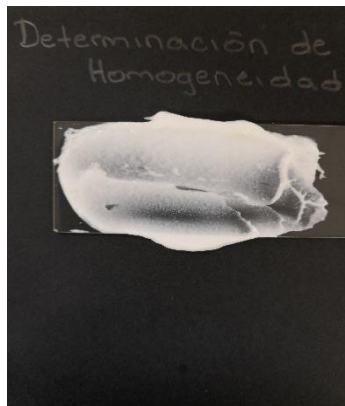


Figura 9. Prueba de homogeneidad

Ensayo de la gota. Se obtuvo una emulsión de tipo o/w de acuerdo al método de la gota, debido a que al colocar una pequeña cantidad del producto dentro de un vaso de precipitados con agua destilada, esta porción difunde en el agua.

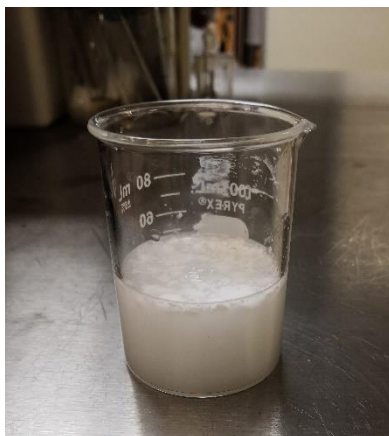


Figura 10. Ensayo de la gota para conocer el tipo de la emulsión

Determinación de pH. La emulsión debe mantener el pH de la piel, el cual es ligeramente ácido. El pH obtenido en una solución acuosa de la emulsión fue de 6.



Figura 11. Valor de pH obtenido

Extensibilidad. La determinación se realizó colocando 2.4g de la muestra sobre un portaobjetos y anotando el radio del círculo formado. Después se colocan pesos crecientes sobre la muestra y también se anota el radio de los círculos resultantes. Con los valores obtenidos se calculan las superficies correspondientes. Los resultados se observan en la siguiente tabla.

Tabla 7. Valores obtenidos durante la prueba de extensibilidad

Masa (g)	Radio (mm)
0	13
100	15
200	18.5
300	21
500	24
rp	18.3

El área de extensibilidad (AE) se calcula mediante la siguiente fórmula:

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

Donde rp es el radio promedio

El área de extensibilidad obtenida fue de 1,052mm²

De acuerdo a Pérez (2011), el área de extensibilidad proporciona una medida del umbral de deformación del sistema y guarda una estrecha relación con la apariencia de formulaciones semisólidas. Una crema no debe ser ni poco extensible (viscoso) ni demasiado extensible (muy fluido), ya que sería muy incómodo para el paciente, por lo que se requiere que esté en un término medio y que se mantenga estable con el tiempo. El área de extensibilidad obtenida evidencia una formulación de fácil aplicación y agradable al tacto.

Prueba microscópica para la determinación de fases



Figura 12. Preparación de la muestra para prueba microscópica

El método del colorante se basa en que el medio dispersante es el medio que se puede teñir por el colorante pues forma una matriz continua que tiene contacto con la superficie de la gota.

Mientras que el medio disperso no tiene acceso al colorante, pues se encuentra rodeado por la matriz del medio dispersante. Entonces, el colorante tiñe el medio dispersante. Así, las emulsiones O/W se teñirán de rojo, tal como se observa en la figura 11, pues el colorante utilizado fue acuoso.

También se observa un tamaño de partícula homogéneo y no hay aglomeración ni coalescencia en la emulsión.

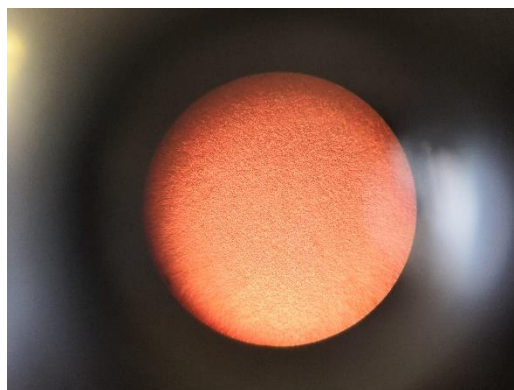


Figura 13. Vista de la crema a través del microscopio

Comparación entre la emulsión con extracto de caléndula y otras formulaciones.

Se realizaron las mismas pruebas a la emulsión con extracto de caléndula y a las tres muestras y se obtuvieron los resultados siguientes.

1. Mascarilla para el cabello

Tabla 8. Pruebas organolépticas y pH

Aspecto y textura	Aspecto agradable y libre de grumos
Color	Amarillo
Olor	Kiwi
pH	7

Control físico-químico

Homogeneidad. Se obtuvo una emulsión homogénea, libre de grumos y sin presencia de burbujas de aire



Figura 14. Prueba de homogeneidad de la mascarilla para el cabello.

Ensayo de la gota. Después de agregar una pequeña cantidad de la emulsión a un vaso de precipitados con agua, la porción difundió en el agua, lo cual indica que es una emulsión de tipo aceite en agua (o/w).



Figura 15. Ensayo de la gota de la mascarilla para el cabello

Extensibilidad. Se colocó una pequeña cantidad de la emulsión en un portaobjetos y después de cubrir la muestra con un segundo portaobjetos se procedió a medir el radio del círculo formado por la emulsión para posteriormente ir colocando pesos crecientes sobre la muestra y de igual forma medir los radios formados. Con el radio promedio (r_p) se calculó el área de extensibilidad (AE).

Tabla 9. Prueba de extensibilidad

Masa (g)	Radio (mm)
0	13
100	27
200	35
300	37.5
500	40
r_p	30.5
AE	2,922mm ²

2. Mascarilla para el cabello

Tabla 10. Pruebas organolépticas y pH

Aspecto y textura	Aspecto agradable y libre de grumos
Color	Amarillo pálido
Olor	Dulce
pH	7

Control físico-químico

Homogeneidad. Se obtuvo una emulsión homogénea, libre de grumos y sin presencia de burbujas de aire.



Figura 16. Prueba de homogeneidad de la mascarilla para el cabello 2

Ensayo de la gota. Después de agregar una pequeña cantidad de la emulsión a un vaso de precipitados con agua, la porción difundió en el agua, lo cual indica que es una emulsión de tipo aceite en agua (o/w).



Figura 17. Ensayo de la gota de la mascarilla para el cabello 2.

Extensibilidad

Tabla 11. Prueba de extensibilidad

Masa (g)	Radio (mm)
0	10
100	30
200	34
300	37
500	38.5
rp	29.9
AE	2,808mm ²

3. Crema con esencia de vainilla

Tabla 12. Pruebas organolépticas y pH

Aspecto y textura	Se obtuvo una emulsión heterogénea
Color	Café
Olor	Vainilla
pH	7

Control físico-químico

Homogeneidad. Se obtuvo una emulsión heterogénea, con una ligera presencia de grumos pero sin burbujas de aire.



Figura 18. Prueba de homogeneidad de la crema de vainilla.

Ensayo de la gota. Después de agregar una pequeña cantidad de la emulsión a un vaso de precipitados con agua, la porción no difundió en el agua, lo cual indica que es una emulsión de tipo agua en aceite (w/o).



Figura 19. Ensayo de la gota de la crema de vainilla.

Extensibilidad

Tabla 13. Prueba de extensibilidad

Masa (g)	Radio (mm)
0	14
100	19.5
200	25
300	26.5
500	30
rp	23
AE	1,661mm ²

Tanto la emulsión de Caléndula como las otras formulaciones presentaron resultados similares en cada prueba realizada, exceptuando la crema con extracto de vainilla que fue la única en la que se observa presencia de grumos en la prueba de homogeneidad (figura 18). El área de extensibilidad resultó similar en las 4 formulaciones lo cual nos indica que todas resultan de fácil aplicación y son agradables al tacto. El pH de las 4 formulaciones se mantiene entre 6 y 7, lo cual es importante para mantener el pH de la piel.

Evaluación de la actividad cicatrizante de la crema de Caléndula.

Una vez obtenido el producto final, se repartió a los usuarios para evaluar su actividad farmacológica. Al finalizar el periodo de evaluación (3 semanas) se les entregó a los usuarios una encuesta y los resultados obtenidos se muestran en las siguientes gráficas.

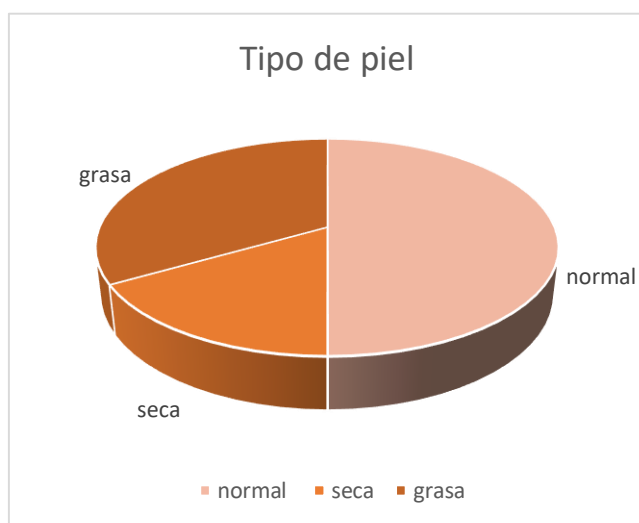


Figura 20. Tipo de piel de los usuarios



Figura 21. Tipo de lesión

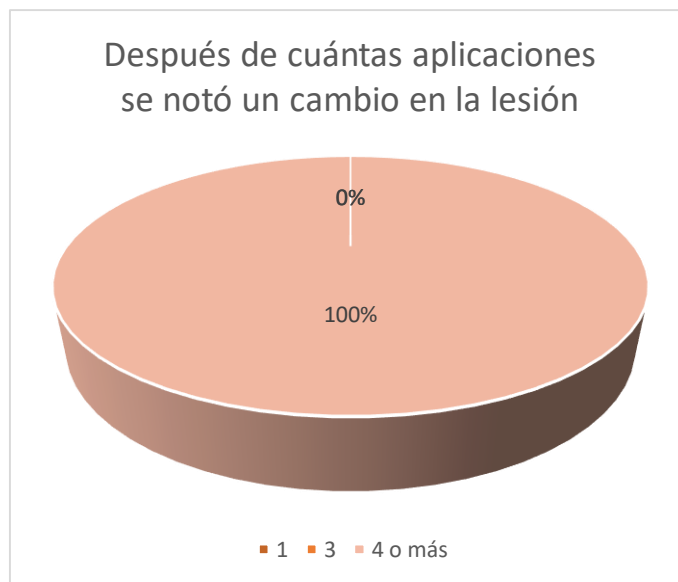


Figura 23. Número de aplicaciones necesarias antes de que se notara un cambio en la lesión.

Como se puede observar la mayoría de los usuarios son mujeres y sus edades varían desde los 15 hasta los 57 años. La crema fue aplicada sobre cicatrices, marcas de acné y manchas en la piel.

El tipo de piel no parece ser un factor que afecte la actividad de la crema, ya que en todos los casos se logró apreciar un cambio en la lesión a partir de la cuarta aplicación independientemente de tener diferentes tipos de piel (normal, seca y grasa).

Las propiedades físicas como el olor, color, consistencia y absorción del producto fueron del agrado de los usuarios y coinciden en su totalidad en que la crema les deja una sensación de humectación sobre la piel. Los encuestados se muestran satisfechos con la crema, sin embargo se sugiere que se continúe con su uso para lograr resultados más visibles.

El cambio en las lesiones de los usuarios durante el periodo de evaluación de la crema se muestra en las siguientes fotografías.

Persona 1



Fotografía 1. Cicatriz en el brazo antes de la primera aplicación de la crema.

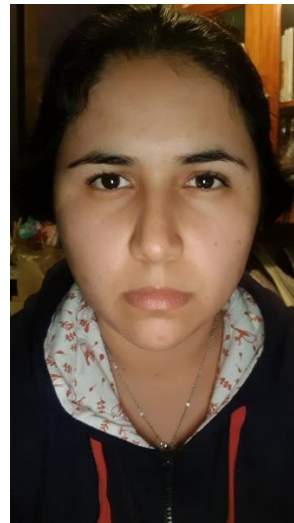


Fotografía 2. Resultado después de 3 semanas de uso. Se nota un ligero desvanecimiento en la cicatriz.

Persona 2



Fotografía 3. Manchas en la zona T des rostro antes de la primera aplicación de la crema.



Fotografía 4. Después de 3 semanas de uso. Las manchas desaparecieron

Persona 3



Fotografía 5. Cicatriz en el brazo antes de la primera aplicación de la crema.



Fotografía 6. Después de 3 semanas de tratamiento. La cicatriz disminuyó considerablemente

Persona 4



Fotografía 7. Manchas en las manos del usuario antes de la primera aplicación de la crema.

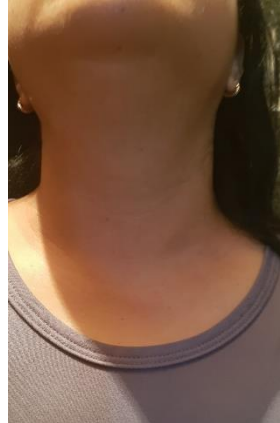


Fotografía 8. Resultado después de 3 semanas de tratamiento. Se nota un ligero desvanecimiento en las manchas.

Persona 5



Fotografía 9. Salpullido en cuello del usuario antes de la primera aplicación de la crema.



Fotografía 10. El salpullido desapareció completamente después de las primeras aplicaciones de la crema.

Persona 6



Fotografía 11. Mancha en la mejilla del usuario antes de la primera aplicación de la crema.



Fotografía 12. Resultado después de 3 semanas de aplicación. La mancha se desvaneció por completo.

Todas las fotografías fueron tomadas antes de la primera aplicación de la crema (izquierda) y después de 3 semanas de uso diario (derecha). Como se puede observar la crema se aplicó en diferentes lesiones de la piel y en todos los casos se observa una mejoría después del tratamiento.

V. Conclusiones

Se identificó de manera correcta la planta utilizada, con el apoyo del herbario de la UAM Xochimilco.

Se logró la formulación óptima de la crema, la cual fue: alcohol cetílico y ácido esteárico como fase oleosa, agua destilada y aloe vera como fase acuosa y como principio activo se utilizó el extracto de caléndula. Además, al incorporar los excipientes adicionales se obtuvo una formulación con las propiedades físico-químicas requeridas tales como color, olor, consistencia, pH y actividad farmacológica.

El extracto de Caléndula obtenido contenía una alta concentración de flavonoides y fenoles gracias al método de extracción que se utilizó.

Se obtuvo una crema con efecto farmacológico.

La crema actúa sobre cualquier tipo de piel y es efectiva en manchas, cicatrices y marcas de acné, como se indica en las gráficas y se aprecia en las fotografías.

Se recomienda ampliar el periodo de uso de la crema para lograr resultados más visibles.

La crema de Caléndula se comparó con 3 distintas formulaciones de cremas hechas a base de extracto vegetal que se realizaron simultáneamente en el octavo módulo de la licenciatura en QFB.

VI. Referencias

1. Lozoya, X. (2000). *Plantas, Medicina y Poder*. México: Editorial Pax.
2. Gob.mx. (2019). *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*. México.
3. Lastra, H & Piquet, R. (2019). *Caléndula officinalis*. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol33_3_99/far07399.pdf.
4. Muñetón, P. (2009). *Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos*. Revista UNAM.
5. Fonnegra G. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. (2° ed). Colombia: Editorial Universidad de Antioquia.
6. Arango C. (2006). *Plantas medicinales: botánica de interés médico*. Colombia, Manizales: Universidad de Caldas.
7. Linares E. (1999). *Plantas medicinales de México: Usos y remedios tradicionales*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
8. Ortiz D. (2005). *Obtención y caracterización de carotenoides*. México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
9. Magaña, M & García, M. (2012). *Dermatología*. (2° ed). España: Editorial Médica Panamericana.
10. Marks, R & Motley, R. (2012). *Dermatología*. México: Editorial El Manual Moderno.
11. Fitzpatrick, B. (2009). *Dermatología en medicina general*. España: Editorial Médica Panamericana.
12. Serna J & Vitales, M. (2019) *Dermatología clínica*. Farmacia Hospitalaria. México.
13. Vila, J. (2001). *Tecnología Farmacéutica*. España: Editorial Síntesis.
14. Cárdenas L & Rojas, L. (2007). *Elaboración de crema anti estrías a partir de productos naturales*. Colombia: Universidad EAFIT.
15. Soto, M. (2015). *Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de Piper peltatum L. y Piper aduncum L. procedente de la región de Amazonas*. Perú: Universidad Nacional de Trujillo
16. Venegas E. (2012). *Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de Thea sinensis L. y su capacidad antioxidante*. Perú: Universidad Nacional de Trujillo.

17. Vázquez, E. (2015). *Actividades biológicas de extractos de plantas y de sus combinaciones*. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid.
18. Gracia, M. (2013). *Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales*. México: Universidad Autónoma de Querétaro.
19. Pérez, T. (2011). *Comportamiento reológico y extensibilidad de una formulación semisólida a partir del extracto acuoso de *Rhizophora mangle* L.* México.

Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

**Proyecto Genérico: Obtención de materias primas, principios activos,
medicamentos y productos biológicos**

Etapas: Diseño y desarrollo de formas farmacéuticas

**Elaboración de una crema con posible efecto cicatrizante a partir de
*Caléndula officinalis***

Presenta

Fernanda Pérez Sosa

Matrícula: 2143024400

Asesor:

M en C. Francisco López Naranjo

Fecha de inicio: 27 de Mayo 2019 Fecha de término: 27 de Noviembre 2019

**Dirección particular: Ernesto Cortázar, manzana 98, #727, colonia San José,
delegación Tláhuac.**

Correo: fernandasosa68@gmail.com

Teléfono fijo: 58424007

Celular: 5543374248

CDMX Noviembre 2019

I. Introducción

Nuestro país ocupa el segundo lugar a nivel mundial en el número de plantas medicinales registradas, y esta riqueza en herbolaria permite el diseño y desarrollo de nuevos productos farmacéuticos a base de extractos vegetales.

El presente trabajo busca crear una forma farmacéutica de uso tópico con una posible actividad cicatrizante a partir del extracto de ***Caléndula officinalis***, planta perteneciente a la familia de las asteráceas a la cual se le atribuye una diversa variedad de actividades farmacológicas. Para lograrlo se empieza por la identificación de la planta en el herbario de la universidad y posteriormente se procede a la obtención del extracto vegetal que será agregado a la formulación final, la cual se someterá a diversas pruebas farmacopeicas para evaluar su calidad y estabilidad.

Herbolaria mexicana

El uso de plantas medicinales es tan antiguo como el hombre mismo. Su origen se remonta a cientos de años atrás, cuando el hombre comenzó a experimentar la necesidad de encontrar remedios y curas a algunas afecciones que padecía. Así, llega al descubrimiento de que ciertas plantas podían aliviar algunos síntomas, e incluso curar enfermedades. Gracias al estudio que los primeros herbolarios consiguieron realizar sobre diversas plantas, hoy por hoy, podemos usar determinados medicamentos o tratamientos con base en componentes que provienen directamente de la naturaleza¹.

Caléndula officinalis

La ***Caléndula officinalis*** es una planta herbácea y aromática, perteneciente a la familia de las asteráceas³, (tabla 1). El tallo mide de 20 a 55 cm de altura, es erguido, ramificado y generalmente con hojas casi hasta el extremo superior. Posee propiedades antiinflamatorias, antieméticas, antisépticas, es también antiespasmódica, antibacteriana, fungicida, cicatrizante y anti ulcerosa, además ha sido utilizada para la prevención y eliminación de estrías.

En medicina popular se utiliza por su acción antibacteriana, fungicida y antiespasmódica⁴. Se considera también emenagoga, como regulador y calmante de los dolores menstruales. Es un buen emoliente ya que suaviza, tonifica e hidrata la piel.

La piel.

Es el órgano más extenso del cuerpo, conforma la capa límite exterior entre el ser humano y el medio ambiente, actúa por una parte como barrera de las agresiones externas, y por otra como enlace estableciendo relaciones sensoriales entre el mundo exterior y los órganos internos.

Dentro de sus funciones se encuentran la termorregulación, recepción de estímulos, protección, queratogenesis y melanogenesis. La piel está constituida por tres capas horizontales desde el exterior hacia el interior: la epidermis, la dermis y la hipodermis.

Lesiones elementales de la piel.

Las lesiones elementales de la piel se dividen en primarias y secundarias. Las lesiones primarias son las que aparecen sobre la piel previamente sana, mientras que las lesiones secundarias se producen por una agresión externa sobre la piel o como consecuencia de la evolución de las primarias¹¹.

Existen diversos productos farmacéuticos de uso tópico que se pueden aplicar sobre determinadas lesiones para disminuirlas o incluso eliminarlas, entre las principales formas farmacéuticas tópicas se encuentran las emulsiones.

Emulsiones

Una emulsión es una dispersión de un líquido en otro con el que es inmisible. El tamaño de las partículas de la fase dispersa puede oscilar entre unos cientos de nanómetros y unos pocos micrómetros. Para ser estables, las emulsiones requieren la presencia de un tercer componente, el agente emulsificante. Las emulsiones pueden ser de dos tipos: gotas de agua dispersas en aceite que se designan W/O, y gotas de aceite dispersas en agua O/W. Un ejemplo típico de O/W es la leche, y de W/O, la mantequilla.

II. Justificación

A pesar de que el uso de plantas medicinales es tan antiguo como el hombre mismo, recientemente ha habido un incremento en el interés de los consumidores en productos cosméticos con base en productos naturales debido a las excelentes propiedades médicas que tienen las plantas y productos naturales en general, además porque se consideran menos tóxicos y producen menos efectos secundarios. Los productos farmacológicos hechos a base de extractos vegetales suponen hoy en día una alternativa más económica, más segura e igualmente eficaz que otros productos. La caléndula officinalis posee una gran variedad de actividades farmacológicas debido a su diversa gama de bioactivos entre los que destacan los flavonoides y es por eso que se partirá del extracto de la caléndula para la formulación de la crema.

III. Objetivos

General:

- Elaborar una crema con efecto cicatrizante a partir de *Caléndula officinalis*

Específicos:

- Identificar la planta de acuerdo a sus características etnobotánicas
- Obtener el extracto a partir del material vegetal
- Realizar la formulación que se empleará en la crema
- Evaluar la actividad del producto por medio de fotografías
- Realizar una comparación con una marca comercial

IV. Metodología

Obtención de los extractos naturales

Extracto oleoso de caléndula: A 25 gramos de flores de caléndula secas se les adicionó 250mL de solvente (aceite mineral). Se calentó durante 20 minutos a 60°C, se dejó reposar por 20 minutos y posteriormente se filtró, envasó y rotuló¹⁴.

Extracto de Aloe Vera. Se obtuvieron los cristales de la penca sábila y se licuaron hasta lograr una consistencia adecuada. La solución obtenida se calentó hasta 60°C y se dejó a esta temperatura por 20 minutos, con el fin de inactivar las enzimas que causan la oxidación. Posteriormente, se retiró del calor y se filtró. Al extracto obtenido se le adicionó 0.2% de ácido cítrico como antioxidante y 0.5% de Nipagin como conservante. Luego, se envasó, rotuló y refrigeró para una mejor conservación¹⁴.

Al extracto de Caléndula obtenido se le realizó una serie de ensayos y pruebas para confirmar la presencia de los bioactivos de interés (flavonoides y fenoles). Para la identificación de flavonoides se realizó el ensayo de Shinoda y una curva de calibración utilizando solución de catequina como estándar. Para la identificación de fenoles se realizó una curva de calibración con una solución estándar de fenol. Una vez identificados los bioactivos se procedió a la elaboración del producto.

Para la elaboración de la crema primeramente se pesaron los compuestos de las dos fases en recipientes separados y se llevaron a la misma temperatura, posteriormente se agregó la fase oleosa sobre la acuosa en constante agitación para lograr la formación de la emulsión, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se envasó.

Se realizaron las pruebas de calidad establecidas en la farmacopea. Se inició con las pruebas organolépticas las cuales consistieron en observar el aspecto, olor, color y textura de la emulsión para después continuar con la prueba de homogeneidad, el ensayo de la gota, extensibilidad y la prueba microscópica para la determinación de fases.

V. Resultados y Análisis de resultados

Método de cuantificación de flavonoides

La curva de calibración para la cuantificación de flavonoides utilizando una solución de catequina como estándar se realizó por triplicado y a continuación se muestra el promedio obtenido. El coeficiente de correlación promedio obtenido fue de 0.9997, lo cual indica linealidad.

Para obtener la concentración de flavonoides presentes en el extracto de caléndula se utilizó la ecuación de la recta y el resultado obtenido fue de 0.313 mg.

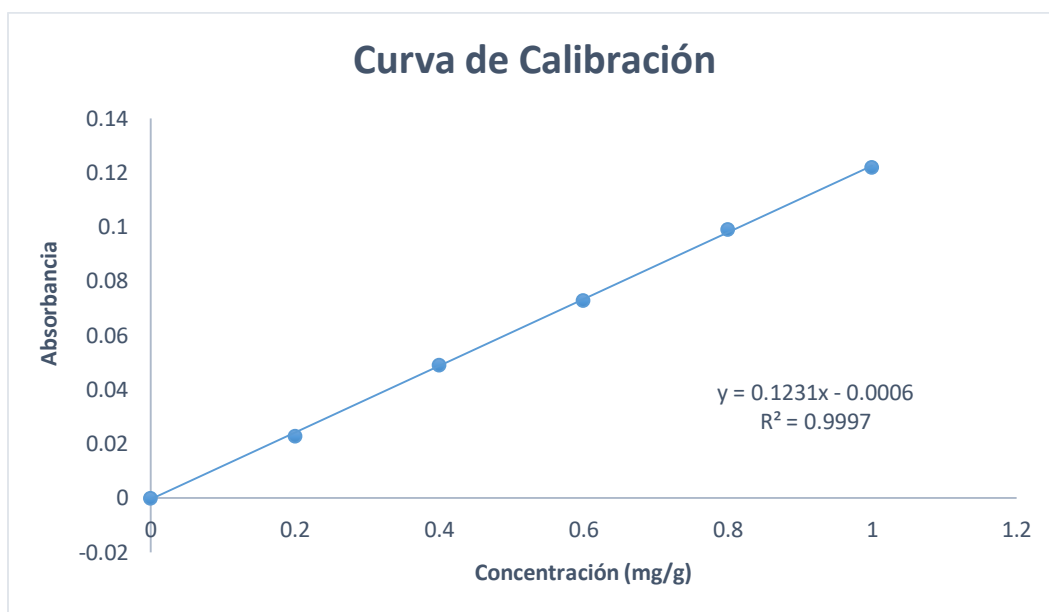


Figura 6. Curva de calibración usando catequina como estándar a 510nm

Método de cuantificación de fenoles

La curva de calibración para la identificación de fenoles se realizó por triplicado y a continuación se muestran los resultados obtenidos. Como se puede observar en la figura 7, el coeficiente de correlación obtenido fue de 0.9998, lo cual indica linealidad. Para obtener la concentración de fenoles presentes en el extracto de Caléndula se utilizó la ecuación de la recta y el resultado obtenido fue de 2.20mg.

Cabe recalcar que la concentración de fenoles en el extracto es considerablemente mayor a la concentración de flavonoides, lo cual concuerda con Gracia (2013), quien en su artículo denominado “*Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales*”, menciona que es de esperarse que la concentración de flavonoides sea menor a la de fenoles debido a que los primeros son un subgrupo de los compuestos fenólicos. De acuerdo a los resultados obtenidos en los métodos de cuantificación, se puede confirmar la presencia de flavonoides y fenoles en el extracto oleoso de Caléndula.

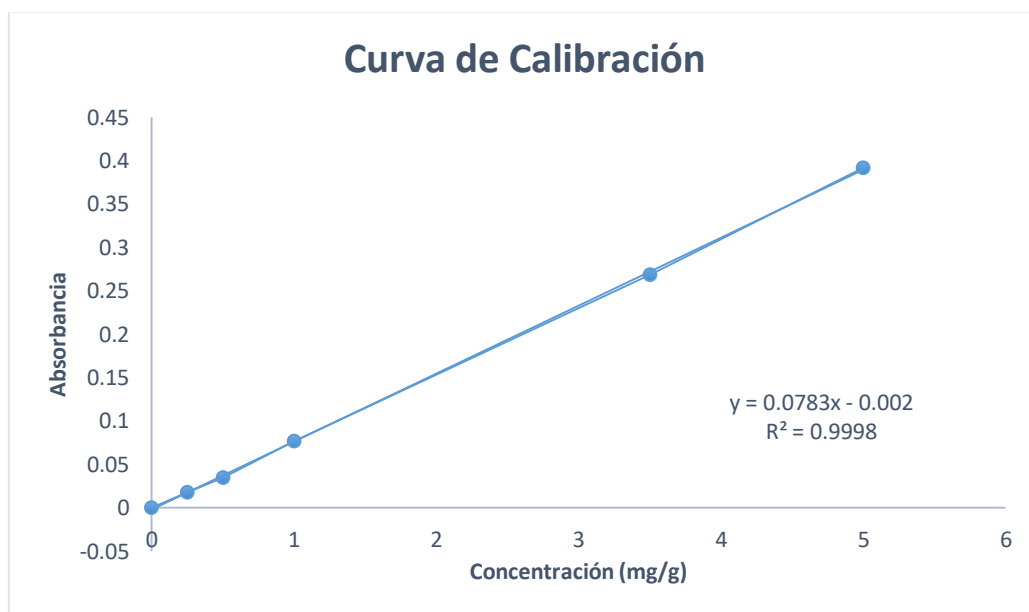


Figura 7. Curva de calibración utilizando solución fenólica como estándar a 700nm

Control organoléptico

Aspecto y textura. Se obtuvo una emulsión de aspecto agradable y que presenta un fácil desplazamiento sobre la piel.

Olor. Durante el proceso de elaboración se adicionó esencia a la emulsión para compensar el olor del extracto de Caléndula.

Color. Se obtuvo un color agradable a la vista.

Evaluación de la actividad cicatrizante de la crema de Caléndula.

Una vez obtenido el producto final, se repartió a los usuarios para evaluar su actividad farmacológica.

El cambio en las lesiones de los usuarios durante el periodo de evaluación de la crema se muestra en las siguientes fotografías.

Persona 1



Persona 2



Persona 3



Persona 4



Persona 5



Persona 6



Todas las fotografías fueron tomadas antes de la primera aplicación de la crema (izquierda) y después de 3 semanas de uso diario (derecha).

VI. Conclusiones

Se identificó de manera correcta la planta utilizada, con el apoyo del herbario de la UAM Xochimilco.

Se logró la formulación óptima de la crema, la cual fue: alcohol cetílico y ácido esteárico como fase oleosa, agua destilada y aloe vera como fase acuosa y como principio activo se utilizó el extracto de caléndula. Además, al incorporar los excipientes adicionales se obtuvo una formulación con las propiedades físico-químicas requeridas tales como color, olor, consistencia, pH y actividad farmacológica.

El extracto de Caléndula obtenido contenía una alta concentración de flavonoides y fenoles gracias al método de extracción que se utilizó.

Se obtuvo una crema con efecto farmacológico.

La crema actúa sobre cualquier tipo de piel y es efectiva en manchas, cicatrices y marcas de acné.

Se recomienda ampliar el periodo de uso de la crema para lograr resultados más visibles.

La crema de Caléndula se comparó con 3 distintas formulaciones de cremas hechas a base de extracto vegetal que se realizaron simultáneamente en el octavo módulo de la licenciatura en QFB.

VII. Referencias

1. Lozoya, X. (2000). *Plantas, Medicina y Poder*. México: Editorial Pax.
2. Gob.mx. (2019). *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*. México.
3. Lastra, H & Piquet, R. (2019). *Caléndula officinalis*. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol33_3_99/far07399.pdf.
4. Muñetón, P. (2009). *Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos*. Revista UNAM.
5. Fonnegra G. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. (2° ed). Colombia: Editorial Universidad de Antioquia.
6. Arango C. (2006). *Plantas medicinales: botánica de interés médico*. Colombia, Manizales: Universidad de Caldas.
7. Linares E. (1999). *Plantas medicinales de México: Usos y remedios tradicionales*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
8. Ortiz D. (2005). *Obtención y caracterización de carotenoides*. México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
9. Magaña, M & García, M. (2012). *Dermatología*. (2° ed). España: Editorial Médica Panamericana.
10. Marks, R & Motley, R. (2012). *Dermatología*. México: Editorial El Manual Moderno.
11. Fitzpatrick, B. (2009). *Dermatología en medicina general*. España: Editorial Médica Panamericana.
12. Serna J & Vitales, M. (2019) *Dermatología clínica*. Farmacia Hospitalaria. México.
13. Vila, J. (2001). *Tecnología Farmacéutica*. España: Editorial Síntesis.
14. Cárdenas L & Rojas, L. (2007). *Elaboración de crema anti estrías a partir de productos naturales*. Colombia: Universidad EAFIT.
15. Soto, M. (2015). *Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de Piper peltatum L. y Piper aduncum L. procedente de la región de Amazonas*. Perú: Universidad Nacional de Trujillo
16. Venegas E. (2012). *Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de Thea sinensis L. y su capacidad antioxidante*. Perú: Universidad Nacional de Trujillo.

17. Vázquez, E. (2015). *Actividades biológicas de extractos de plantas y de sus combinaciones*. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid.
18. Gracia, M. (2013). *Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales*. México: Universidad Autónoma de Querétaro.
19. Pérez, T. (2011). *Comportamiento reológico y extensibilidad de una formulación semisólida a partir del extracto acuoso de *Rhizophora mangle* L.* México.