



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA  
SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**DETERMINACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE UN  
GEL A BASE DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.)  
EN RATAS (*Rattus wistar*) REALIZADO EN LOS  
LABORATORIOS DE LA UNIVERSIDAD ALAS  
PERUANAS FILIAL AREQUIPA- 2016**

TESIS PRESENTADA POR LA BACHILLER:

**QUISPE GRANDILLER, SUSAN VANESSA**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AREQUIPA- PERÚ

2016

## DEDICATORIA

Dedico mi tesis a Dios, por ser esa luz que me alumbra y me guía en mi camino.

A mis padres Raúl y María que siempre me brindan su apoyo para seguir adelante y conseguir mis metas pese a las adversidades.

A mi hermana Rayza por ser mi amiga, que está a mi lado dándome ánimo, enseñándome que en esta vida las metas se consiguen con esfuerzo, paciencia y dedicación.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Alas Peruanas, por ser la casa de estudio donde no solo aprendí conocimientos profesionales, si no valores que llevaré presente para ser una profesional de bien.

A la Directora de la Escuela de Farmacia y Bioquímica Mg. Q.F. Alexandra Fernández Gambarini, por impartir sus sabios consejos, enseñarme que con perseverancia y constancia se alcanzan las metas que uno se traza en la vida.

A los docentes que me enseñaron durante mi formación profesional, por brindarme sus conocimientos en el transcurso de estos años.

Y un agradecimiento especial a mi asesora Q.F. Liset Ramírez Díaz, por su apoyo incondicional durante todo el tiempo que me llevó realizar este trabajo.

## RESUMEN.

En la presente investigación, se determinó el efecto cicatrizante de un gel elaborado a base de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) en heridas experimentalmente inducidas en ratas Wistar.

La recolección de las hojas de achiote, se realizó en el departamento de Madre de Dios y se identificó en el Herbarium Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa (UNSA), con las hojas se preparó un extracto acuoso por decocción, al que se le realizó un análisis fitoquímico, que determinó la presencia de taninos y flavonoides. También se le realizaron pruebas físicas de acuerdo a los procedimientos que indican la Farmacopea Argentina y de acuerdo a la Estandarización para Drogas Herbales, con las especificaciones de la World Health Organization para parámetros físicos; como son la densidad relativa, pH y viscosidad relativa dando resultados aceptables con un valor de 1.01 g/ml, 4.67 y 5.9 respectivamente.

El extracto acuoso sirvió para preparar el gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al que se le realizó el respectivo control de calidad físico, que corresponde a los preparados semisólidos tópicos, dando como resultados, un gel homogéneo que no presentaba grumos, de color amarillo pardo, con olor característico a la planta y con un pH de 7.16; en cuanto a los resultados del control microbiológico, se encontraron dentro

de los límites permisibles, todos estos resultados están de acuerdo a la Farmacopea Internacional, Pharmaceutical Manufacturing Handbook y la Farmacopea Europea para formas farmacéuticas no estériles respectivamente.

El efecto cicatrizante, se determinó *in vivo* en heridas inducidas experimentalmente de 2 cm de longitud y de 2 mm de profundidad en el lomo de 10 ratas Wistar, las cuales fueron separadas en dos grupos cada uno de 5 ratas Wistar, uno de los grupos fue el experimental al que se le aplicó el tratamiento, con el gel de hojas de achiote al 18%, cada 12 horas y el otro grupo fue el control que no recibió tratamiento alguno, durante un periodo de 15 días de estudio.

El trabajo fue evaluado con la estadística T- student para variables independientes y con diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), que afirma que el gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) presenta efecto cicatrizante, ya que el grupo que recibió tratamiento con el gel de hojas de achiote al 18%, presentó cicatrización en 8 días en comparación con las ratas que fueron parte del grupo control, cuyas heridas cicatrizaron a los 12 días.

**Palabras claves:** heridas, cicatrización, gel, taninos, flavonoides, hojas de achiote.

### **ABSTRACT.**

In this research, the healing effect was determined, of a gel made from leaves of achiote (*Bixa orellana* L.) in wounds experimentally induced in Wistar rats.

The achiote leaves was collected at Madre de Dios department, and were identified in the Herbarium Arequipense (HUSA) of the San Agustin National University of Arequipa (UNSA). An aqueous extract was performed by decoction of the achiote leaves. The aqueous extract was underwent a phytochemical analysis, where was determined the presence of tannins and flavonoids. Also were realized physical tests conducted according to the procedures indicated in Pharmacopoeia Argentina and according to the Standardization for Herbal Drugs, with the specifications of the World Health Organization for physical parameters; such as relative density, pH and relative viscosity giving acceptable results with a value of 1.01 g/ml, 4.67 and 5.9 respectively.

The aqueous extract of the achiote leaves was used to prepare the gel, which it underwent the quality control physical tests corresponding to topical semisolid preparations; the results were the following: a homogeneous gel without lumps, color brown – yellow, smell characteristic of the plant and with a pH of 7.16; the microbiological results were within the permissible limits, all these results according to the International Pharmacopoeia, Pharmaceutical Manufacturing Handbook and the European Pharmacopoeia for Pharmaceutical Forms Nonsterile respectively.

The healing effect was determined *in vivo* in experimentally induced wounds, of 2 cm in length and 2 mm deep in the back of 10 Wistar rats. The rats were divided into two groups of 5; at the experimental group was applied treatment with gel leaves achiote to 18% every 12 hours and the control group received no treatment, for a periodo of 15 days of study.

The results were evaluated by T- student test for independent variables with statistically significant level ( $p < 0.05$ ), the test proves that the gel leaves achiote (*Bixa orellana* L.) has healing effect; Wherein the experimental group treated with gel leaves achiote to 18%, scarring occurs in 8 days, and in the control group occurs the scarring in 12 days.

**Keywords:** wound, healing, gel, tannins, flavonoids, achiote leaves.

**TABLAS DE CONTENIDOS.**

DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTO .....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT .....	vi
TABLAS DE CONTENIDOS .....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	xiv
ÍNDICE DE CUADROS.....	xv
ÍNDICE DE DIAGRAMA DE FLUJO.....	xvi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xvii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xx
INTRODUCCIÓN.....	xxi



## CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO .....	1
1.1.- Descripción de la realidad problemática.....	1
1.2.- Delimitación y definición del problema .....	2
1.2.1.- Delimitaciones .....	2
1.2.2.- Definición del problema. ....	2
1.3.- Formulación del problema a investigar.....	3
1.3.1.- Subproblemas. ....	3
1.4.- Objetivos de la investigación .....	3
1.4.1.- Objetivo general .....	3
1.4.2.- Objetivos específicos.....	3
1.5.- Hipótesis de la investigación .....	3
1.6.- Variables.....	4
1.6.1.- Definición conceptual de las variables .....	4
1.6.2.- Definición operacional de las variables .....	4
1.7.- Justificación e importancia de la investigación .....	5
1.8.- Limitaciones de la investigación .....	6
1.9.- Tipo y nivel de investigación .....	6
1.9.1.- Tipo de investigación .....	6
1.9.2.- Nivel de investigación .....	6
1.10.- Método y diseño de la investigación.....	7
1.10.1.- Método de la investigación .....	7
1.10.2.- Diseño de la investigación .....	35
1.11.- Técnicas e instrumentos de recolección de información .....	36
1.11.1.- Técnica.....	36

1.11.2.- Instrumentos.....	36
1.12.- Cobertura del estudio.....	37
1.12.1.- Universo.....	37
1.12. 2.- Muestra .....	37

## CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO.....	38
2.1.- Antecedentes investigativos.....	38
2.1.1.- Fundamento teórico de la investigación.....	38
2.1.1.1.- Título: Plantas medicinales de uso popular en la Amazonia peruana.....	38
2.1.1.2.- Título: <i>Bixa orellana</i> : una revisión de su fitoquímica, usos tradicionales y farmacológicos .....	39
2.1.1.3.- Título: La <i>Bixa orellana</i> L. en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar .....	39
2.1.1.4.- Título: Uso de la medicina tradicional natural en pacientes diabéticos con afecciones podológicas. La <i>Bixa</i> .....	40
2.1.1.5.-Título: Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de <i>Peperomia scutellaefolia</i> R. et P. en geles aplicados a <i>Rattus norvergicus</i> .....	40
2.1.1.6.- Título: Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de <i>Junglas neotropica</i> Diels “nogal” en ratones albinos .....	41
2.2.- Marco conceptual.....	42
2.2.1.- Achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) .....	42
2.2.2.- Metabolitos secundarios con efecto cicatrizante .....	45
2.2.3.- Herida .....	48
2.2.4.- Gel.....	51

**CAPÍTULO III**

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS .....	57
3.1.- Población y muestra.....	57
3.2.- Nivel de confianza y grado de significancia .....	58
3.3.- Tamaño de la muestra representativa .....	58
3.4.- Análisis e interpretación de resultados .....	59

**CAPÍTULO IV**

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	70
CONCLUSIONES .....	70
RECOMENDACIONES .....	72
BIBLIOGRAFÍA .....	73
ANEXOS .....	79
GLOSARIO DE TÉRMINOS .....	103

### ÍNDICE DE TABLAS.

<b>TABLA 01:</b> Determinación de cenizas totales de las hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) .....	59
<b>TABLA 02:</b> Determinación del porcentaje de humedad de las hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> ) .....	59
<b>TABLA 03:</b> Descripción organoléptica del extracto acuoso de las hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.).....	60
<b>TABLA 04:</b> Determinación de los parámetros físicos del extracto acuoso de las hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) .....	60
<b>TABLA 05:</b> Identificación cualitativa de metabolitos secundarios en el extracto acuoso de las hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) .....	61
<b>TABLA 06:</b> Formulación del gel hidrófilo de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) al 18% .....	62
<b>TABLA 07:</b> Determinación de las propiedades físicas del gel elaborado a base de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) al 18%.....	63
<b>TABLA 08:</b> Determinación del pH al gel elaborado a base de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) al 18%.....	64

<b>TABLA 09:</b> Identificación cualitativa de metabolitos secundarios en el gel de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana L.</i> ) al 18% .....	64
<b>TABLA 10:</b> Determinación del número de microorganismos (mesófilos aerobios, mohos y levaduras) en el gel elaborado a base de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana L.</i> ) al 18% .....	65
<b>TABLA 11:</b> Determinación de patógenos objetables ( <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) en el gel elaborado a base de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana L.</i> ) al 18%.....	66
<b>TABLA 12:</b> Comparación del efecto cicatrizante del gel de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana L.</i> ) al 18% entre dos grupos de estudio de ratas ( <i>Rattus wistar</i> ).....	67
<b>TABLA 13:</b> Comparación del tiempo de cicatrización según las longitudes de cicatrización registradas en el grupo con el tratamiento del gel de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana L.</i> ) al 18% con respecto al grupo sin tratamiento.....	68
<b>TABLA 14:</b> Registro de datos de las medidas de cicatrización de las heridas inducidas en las ratas ( <i>Rattus wistar</i> ) .....	102

### ÍNDICE DE GRÁFICOS.

- GRÁFICO 01:** Comparación del efecto cicatrizante del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L) al 18% según el tiempo de cicatrización entre el grupo con tratamiento y sin tratamiento de ratas (*Rattus wistar*).....67
- GRÁFICO 02:** Comparación de las longitudes de cicatrización de las heridas inducidas en ratas (*Rattus wistar*) según al tiempo de cicatrización con el tratamiento del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% en el grupo experimental con respecto al grupo control (sin tratamiento) ..... 69

**ÍNDICE DE CUADROS.**

<b>CUADRO 01:</b> Definición conceptual y operacional de las variables.....	4
<b>CUADRO 02:</b> Hoja de registro de datos de las medidas de cicatrización de las heridas inducidas en las ratas ( <i>Rattus wistar</i> ) .....	101

**ÍNDICE DE DIAGRAMA DE FLUJO.**

**DIAGRAMA DE FLUJO 01:** Proceso del diseño experimental de la investigación .....35



### ÍNDICE DE FIGURAS.

<b>FIGURA 01:</b> Recolección de las hojas de achiote .....	7
<b>FIGURA 02:</b> Desección de las hojas de achiote en sombra .....	8
<b>FIGURA 03:</b> Decocción de las hojas de achiote .....	11
<b>FIGURA 04:</b> Reconocimiento de flavonoides con hidróxido de sodio 10% .....	17
<b>FIGURA 05:</b> Reconocimiento de saponinas con la prueba de espuma.....	18
<b>FIGURA 06:</b> Reconocimiento de fenoles con el reactivo de cloruro férrico.....	19
<b>FIGURA 07:</b> Reconocimiento de taninos con el reactivo gelatina-sal .....	20
<b>FIGURA 08:</b> Elaboración del gel hidrófilo de las hojas de achiote al 18% .....	22
<b>FIGURA 09:</b> Gel de hojas de achiote al 18% envasado a 40 g.....	24
<b>FIGURA 10:</b> Planta de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.).....	44
<b>FIGURA 11:</b> Determinación de cenizas totales.....	80
<b>FIGURA 12:</b> Determinación del porcentaje de humedad .....	81
<b>FIGURA 13:</b> Extracto acuoso de hojas de achiote.....	82

<b>FIGURA 14:</b> Peso del agua destilada y el extracto acuoso de hojas de achiote en un picnómetro para determinar su densidad relativa.....	83
<b>FIGURA 15:</b> Tiempo que demora en escurrir el agua destilada y el extracto acuoso de hojas de achiote a través del tubo capilar del viscosímetro de Ostwald para determinar su viscosidad relativa.....	84
<b>FIGURA 16:</b> Valor del pH del extracto acuoso de hojas de achiote al 18% .....	85
<b>FIGURA 17:</b> Presencia de fenoles, taninos y flavonoides en el extracto acuoso de hojas de achiote .....	86
<b>FIGURA 18:</b> Preparación del gel de hojas de achiote al 18%.....	87
<b>FIGURA 19:</b> Características organolépticas del gel de hojas de achiote .....	88
<b>FIGURA 20:</b> Valor del pH del gel de hojas de achiote al 18% .....	89
<b>FIGURA 21:</b> Presencia de flavonoides, taninos y a la vez de fenoles en el gel de hojas de achiote al 18%.....	90
<b>FIGURA 22:</b> Placas de Agar Nutriente de las diluciones del gel de hojas de achiote al 18% para la identificación de mesófilos aerobios.....	91
<b>FIGURA 23:</b> Placas de Agar de Sabouraud con las diluciones del gel de hojas de achiote al 18% para la identificación de mohos- levaduras .....	92
<b>FIGURA 24:</b> Placas de Agar de Mac Conkey con la dilución del gel de hojas de achiote al 18% para la identificación de <i>Escherichia coli</i> .....	93
<b>FIGURA 25:</b> Placas de Agar de Manitol Salado con la dilución del gel de hojas de achiote al 18% para la identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	93
<b>FIGURA 26:</b> Placas de Agar Nutriente con la dilución del gel de hojas de achiote al 18% para la identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	93
<b>FIGURA 27:</b> Medición del tamaño de 2 cm de longitud para la inducción de la herida en el lomo de la rata Wistar .....	94
<b>FIGURA 28:</b> Medición de la profundidad de 2 mm en la hoja de bisturí para la inducción de la herida en el lomo de la rata Wistar .....	95
<b>FIGURA 29:</b> Medición de la herida inducida de 2 cm de longitud y de 2 mm de profundidad en lomo de la rata Wistar .....	96

- FIGURA 30:** Identificación con la asignación de un número en las colas de las ratas Wistar que pertenecían al grupo experimental..... 97
- FIGURA 31:** Identificación con la asignación de un número más un punto en las colas de las ratas Wistar que pertenecían al grupo control ..... 97
- FIGURA 32:** Colocación de una capa del gel de hojas de achiote al 18% sobre la herida inducida en el lomo de la rata Wistar del grupo experimental ..... 98
- FIGURA 33:** Proceso de cicatrización de las heridas inducidas en las ratas (*Rattus wistar*) en presencia y ausencia del tratamiento con el gel de hojas de achiote al 18% en una rata del grupo experimental y una rata del grupo control respectivamente..... 99

## ÍNDICE DE ANEXOS.

<b>ANEXO 01:</b> Constancia de la identificación botánica del achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) ...	79
<b>ANEXO 02:</b> Pruebas fisicoquímicas de control de calidad a las hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.).....	80
<b>ANEXO 03:</b> Realización de pruebas físicas al extracto acuoso de las hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.).....	82
<b>ANEXO 04:</b> Identificación de metabolitos secundarios en el extracto acuoso de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) al 18%.....	86
<b>ANEXO 05:</b> Formulación del gel hidrófilo de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) al 18% .....	87
<b>ANEXO 06:</b> Pruebas físicas, fitoquímicas y microbiológicas al gel de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.).....	88
<b>ANEXO 07:</b> Inducción de la herida por escisión y el proceso de cicatrización en las ratas ( <i>Rattus wistar</i> ) .....	94
<b>ANEXO 08:</b> Hoja de registro de datos de las medidas de cicatrización de las heridas inducidas en las ratas ( <i>Rattus wistar</i> ) .....	101
<b>ANEXO 09:</b> Registro de datos de las medidas de cicatrización de las heridas inducidas en las ratas ( <i>Rattus wistar</i> ) .....	102

## INTRODUCCIÓN.

La piel es uno de los órganos más importante que está en contacto con el medio externo, nos protege frente a la invasión de microorganismos y cuerpos extraños.

Está expuesta a una amplia variedad de agresiones químicas, físicas y biológicas, que causan su ruptura produciendo heridas las cuales siguen un proceso natural de curación, donde se lleva a cabo una secuencia habitual de regeneración hasta conseguirse la cicatrización; sin embargo, las heridas que presentan deterioro de la cicatrización, incluyendo heridas agudas retardadas y heridas crónicas, generalmente no han podido progresar a través de las etapas normales de curación.

En los últimos años se ha puesto interés a las plantas medicinales, que a través de estudios han demostrado que su uso medicinal, se apoya en fundamentos científicos ya que contienen metabolitos secundarios, como son los flavonoides, taninos, mucílagos, etc. a los que se les atribuye el efecto terapéutico cicatrizante, disminuyendo el tiempo de regeneración del tejido, mejorando la elasticidad, restaurando el color, aspecto y la textura natural de la piel.

El achiote (*Bixa orellana* L.) es un arbusto que crece en nuestra Amazonía peruana en los departamentos de Cusco, Amazonas, Madre de Dios, etc. cuyas hojas son usadas de forma popular, macerando nueve a una docena de sus hojas en un litro de agua durante una noche, para ser aplicada en las heridas con el fin de cicatrizarlas. Otros

usos medicinales de esta planta son como antiinflamatorio, analgésico, antiséptico y digestivo.

Uno de los propósitos a los que se encaminan las nuevas investigaciones, es no solo aislar metabolitos que tengan fines terapéuticos, si no darles presentaciones adecuadas para ser administradas.

Los geles son productos semisólidos a los que se les pueden incorporar uno o varios principios activos, cuya propiedad es la de mantener durante más tiempo al principio activo en la piel o las mucosas (nasal, vaginal, etc.). También presenta un amplio rango de humectación, por lo tanto su evaporación y absorción de sus principios activos puede ser ampliamente manipulado.

El presente trabajo se enmarca en el estudio experimental del efecto cicatrizante de un gel de hojas de achiote "*Bixa orellana* L." en heridas producidas de acuerdo al "Modelo de inducción de herida por escisión" en ratas "*Rattus wistar*".

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

#### 1.1.- Descripción de la realidad problemática.

El hombre se encuentra expuesto diariamente a múltiples daños no intencionados, que conllevan generalmente a sufrir diferentes lesiones superficiales, que conducen espontáneamente a un proceso de cicatrización.

La cicatrización de las heridas sigue habitualmente una secuencia previsible, pero debido a muchos factores (edad, sexo, obesidad, nutrición, diabetes, etc) que interfieren en una o más fases de esta secuencia, pueden afectar la cicatrización de las heridas, causando una reparación tisular inadecuada o alterada que conlleva a una cicatrización retardada.<sup>1</sup> Para los profesionales sanitarios, es un reto instaurar estrategias terapéuticas eficaces y económicas.

Existen actualmente tratamientos farmacológicos para acelerar la cicatrización y conseguir una curación con el fin de no dejar rastro del daño sufrido, que son caros; sin embargo, los costos elevados de estos tratamientos no permiten que sean utilizados por la población de bajos recursos económicos.

---

<sup>1</sup> Guio S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. J Dent Rest [en línea] 2009 Octubre 30 [fecha de acceso 12 de Mayo 2016]; 89(3):219-229. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. p. 219-221

## 1.2.- Delimitación y definición del problema.

### 1.2.1.- Delimitaciones.

#### A. Delimitación espacial.

Se desarrolló en la ciudad de Arequipa en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas.

#### B. Delimitación temporal.

Realizado durante los meses de mayo a agosto del 2016.

#### C. Delimitación social.

Beneficiará a la población que presente una herida.

#### D. Delimitación conceptual.

**D.1 Área:** Salud.

**D.2 Campo:** Farmacia y Bioquímica.

**D.3 Línea:** Farmacognosia y Fisiología.

**D.4 Tema general:** Tratamiento herbario de heridas en ratas.

**D.5 Tema específico:** Determinación del efecto cicatrizante del gel elaborado a base de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) en ratas (*Rattus wistar*).

### 1.2.2.- Definición del problema.

Todas las personas están expuestas a sufrir heridas que conducen a un proceso de cicatrización.

De acuerdo a las aplicaciones medicinales que se les da a las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.), con su uso de manera tradicional para el proceso de cicatrización, se plantea la presente investigación con el propósito de determinar el efecto cicatrizante *in vivo* de un gel elaborado a base de un extracto acuoso de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) sobre las heridas inducidas por "Escisión" en ratas (*Rattus wistar*).



### 1.3.- Formulación del problema a investigar.

- ¿Qué resultado se obtendrá de la determinación del efecto cicatrizante del gel elaborado a base de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) en heridas experimentalmente inducidas en ratas (*Rattus wistar*)?

#### 1.3.1.- Subproblemas.

- ¿Qué resultados se obtendrán del control de calidad físico (pH, color, olor, aspecto, sensación al tacto y la revisión de grumos) y microbiológico (cuantificación de microorganismos mesófilos aerobios, mohos-levaduras y patógenos objetables como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*) al gel elaborado a base de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.)?
- ¿Cuánto tiempo demorará la cicatrización de las heridas experimentalmente inducidas en ratas (*Rattus wistar*) en presencia y ausencia del tratamiento con el gel elaborado a base de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.)?

### 1.4.- Objetivos de la investigación.

#### 1.4.1.- Objetivos generales.

- Determinar el efecto cicatrizante del gel elaborado a base de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) en heridas experimentalmente inducidas en ratas (*Rattus wistar*).

#### 1.4.2.- Objetivos específicos.

- Realizar el control de calidad físico (pH, color, olor, aspecto, sensación al tacto y la revisión de grumos) y microbiológico (cuantificación de microorganismos mesófilos aerobios, mohos-levaduras y patógenos objetables como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*) al gel elaborado a base de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.)
- Comparar el tiempo de cicatrización de las heridas experimentalmente inducidas en ratas (*Rattus wistar*) en presencia y ausencia del tratamiento con el gel elaborado a base de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.).

### 1.5.- Hipótesis de la investigación.

Dado que las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) contienen taninos y flavonoides; es probable que el gel elaborado a base de las hojas de achiote, posea efecto cicatrizante.

### 1.6.- Variables.

#### 1.6.1.- Definición conceptual y operacional de las variables.

**CUADRO 01:** Definición conceptual y operacional de las variables.

DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL					
VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADOR	SUB INDICADORES	ITEMES	ESCALA	CATEGORIZACIÓN
Efecto cicatrizante del gel hidrófilo de hojas de achiote ( <i>Bixa orellana</i> L.) al 18%	Parámetros físicos del gel de achiote <sup>2</sup>	Aspecto	Homogéneo	6	Nominal	Variable cuantitativa discreta
			Heterogéneo			
		Color	Característico			
		Olor	Característico			
		Revisión de grumos	Ausencia			
			Presencia			
		Sensación al tacto	Suave			
	Áspero					
	pH	5-8	Razón			
	Análisis microbiológico al gel de achiote <sup>3</sup>	Mesófilos aerobios	10 <sup>2</sup> UFC/g	5	Razón	
		Mohos y levaduras	10 <sup>1</sup> UFC/g			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en 1 g		Nominal	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia en 1 g			
		<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1 g			
	Proceso de cicatrización	Tiempo de cicatrización	Con tratamiento	1	Nominal	
Sin tratamiento						

**Fuente:** elaboración propia.

<sup>2</sup> Abrahmsén – Alami S *et al* Zhai H. Pharmaceutical Manufacturing Handbook. Estados Unidos: John Wiley & Sons, INC, Publication; 2008. p. 302 (pH)

<sup>3</sup> Farmacopea Europea. 7<sup>a</sup> ed. Europa: Farmacopea Europea; 2011. p. 507

### 1.7.- Justificación e importancia de la investigación.

Una herida es una lesión que es consecuencia de una agresión, que conlleva a una separación de la continuidad del tejido.<sup>4</sup> Algunas personas afectadas recurren a usar algún tratamiento con el fin de acelerar la cicatrización y curarse totalmente, sin que les quede secuelas.

En nuestro país hay una gran variedad de plantas medicinales con efecto cicatrizante, como el achiote, cuyas hojas son usadas tradicionalmente como cicatrizante de heridas en forma de maceración con agua durante una noche.<sup>5</sup> Sin embargo, la maceración en agua trae problemas, como son la contaminación microbiana que se produce al no mantener el extracto a una adecuada conservación, por lo que fue conveniente preparar el extracto por otro método escogiéndose la decocción, por ser un método sencillo, rápido y económico.

La forma farmacéutica que se le dio al extracto fue de un gel; ya que los geles permiten la incorporación de uno o varios principios activos, manteniendo durante más tiempo al principio activo en la piel o las mucosas, siendo ideal para ser aplicadas sobre heridas.<sup>6, 7</sup>

Al ser esta una época de mayor desarrollo tecnológico, las formas farmacéuticas son fabricadas y controladas. Y esto se mide por la capacidad de ejercer el efecto terapéutico esperado, lo que viene determinado por su identidad, pureza, contenido, propiedades químicas, físicas y biológicas de su proceso de fabricación; además del cumplimiento de los requisitos previstos de calidad que garantizan formas farmacéuticas inocuas y efectivas que no causen irritaciones ni ningún tipo de inconveniente.

---

<sup>4</sup> Bermúdez S *et al*/ Videla E. Consenso sobre cicatrización de heridas. Dermatología Argentina [en línea] 2008 Julio 14 [fecha de acceso 2016 Mayo 6]; 14(4) 1-41. Disponible en: <http://www.dermatolarg.org.ar> .p. 4

<sup>5</sup> Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía peruana: Achiote. 2ª ed. Lima: Tarea Asociación Gráfica Educativa; 2000.p. 16

<sup>6</sup> Bhowmik D, Gopinath H, Pragati Kumar B, Duraivel S, Sampath Kumar KP. Recent advances in novel topical drug delivery system. The Pharma Journal [en línea] 2012 Enero 01 [fecha de acceso 15 de Mayo 2016]; 1(9): 12-31. Disponible en: [www.thepharmajournal.com](http://www.thepharmajournal.com). p. 28

<sup>7</sup> Gennaro A. Remington Farmacia [libro electrónico]. Vol. I. 20ª ed. Argentina: Médica Panamericana; 2003 [citado 2016 mayo 4]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books>. p. 867

## 1.8.- Limitaciones de la investigación.

- El no poder determinar el parámetro de viscosidad para geles, debido a que los carbómeros dan geles altamente viscosos una vez neutralizados, y no contar con un tipo de viscosímetro para estos geles, como es el viscosímetro de Brookfield.<sup>8</sup> No obstante a un intervalo de pH de 5- 8 la reología (viscosidad) del gel de carbómero permanece notablemente estable.<sup>9</sup>

## 1.9.- Tipo y nivel de investigación.

### 1.9.1.- Tipo de investigación.

El tipo de investigación es de laboratorio siendo experimental.

### 1.9.2.- Nivel de investigación.

El presente trabajo de investigación es de nivel explicativo- experimental, cuyo propósito se basa en la medición y proporcionar un sentido de entendimiento del efecto producido por la variable a analizar en el grupo de investigación; <sup>10</sup> con el fin de comprobar el efecto cicatrizante de un gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% en heridas experimentalmente inducidas en ratas Wistar.

---

<sup>8</sup> Rowe R, Sheskey PJ, Quinn M E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6ª ed. Estados Unidos: Pharmaceutical Pres; 2009. p. 112

<sup>9</sup> Gibson M. Pharmaceutical Preformulation and Formulation. Vol. 199. 2ª ed. Estados Unidos: Informa Healthcare USA; 2009. p. 503

<sup>10</sup> Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio P. Metodología de la Investigación. 6ª ed. México: Mc Graw Hill-Interamericana Editores; 2014. pp. 92-98

## 1.10.- Método y diseño de la investigación.

### 1.10.1.- Método de la investigación.

#### A.- ACONDICIONAMIENTO DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

##### a) PROCEDIMIENTO.

**a.1) Recolección:** Las hojas de achiote se recolectaron en el departamento de Madre de Dios, ubicado a una altitud inferior de (500 msnm), en el mes de abril durante la mañana y con mucho cuidado; se escogieron las hojas tiernas, se desecharon las hojas descoloridas o con muestra de daño por insectos o babosas y con manchas; solo se trabajaron con las hojas seleccionadas. <sup>11</sup>

**FIGURA 01:** Recolección de las hojas de achiote.



**Fuente:** elaboración propia.

---

<sup>11</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Félix Varela; 2001.pp. 34, 40

**a.2) Limpieza:** Las hojas de achiote fueron tratadas con agua destilada para eliminar materias extrañas, polvo o tierra.<sup>12</sup>

**a.3) Desección:** Se llevó a desecación las hojas de achiote a sombra en un campo limpio durante cuatro días en una zona seca para privarla de agua y así evitar su alteración durante el tiempo de almacenamiento.<sup>13</sup>

**FIGURA 02:** Desección de las hojas de achiote en sombra.



**Fuente:** elaboración propia.

**a.4) Grado de división de la droga:** Se logró cuando las hojas de achiote fueron molidas finamente para asegurar una mejor absorción en el disolvente, para ello se usó un mortero limpio.<sup>14</sup>

**a.5) Almacenamiento:** Las hojas de achiote ya molidas finamente fueron almacenadas en un frasco de vidrio color ámbar en un lugar limpio, perfectamente ventilado, sin humedad y al abrigo de la luz para su posterior uso.<sup>15</sup>

---

<sup>12</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Félix Varela; 2001. p. 42

<sup>13</sup> Abdala S *et al*/ Zaruelo A. Farmacognosia General. Madrid: Síntesis S.A; 2010. p. 51

<sup>14</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. op. cit., p. 154

<sup>15</sup> *Ibíd*, p. 44

## B.- ENSAYOS FISICOQUÍMICOS DE CONTROL DE CALIDAD A LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

### B.1.- DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD.

Se entiende por “humedad” el agua libre que contiene en este caso el material vital.

Un exceso de agua en una droga puede provocar el crecimiento microbiano, la presencia de hongos o insectos y el deterioro, seguido de la hidrólisis de los principios activos.<sup>16</sup>

#### a) PROCEDIMIENTO.

- Se colocó 1 gramo de muestra vegetal (hojas de achiote) trituradas en un crisol limpio y se llevó a pesar.
- Luego se colocó en la estufa a 105 °C durante 1 hora y se dejó enfriar.
- Después se pesó el crisol en la balanza analítica y el peso perdido resultante indica el contenido en agua de la muestra vegetal según la siguiente fórmula del cuadro.<sup>17</sup>
- Límites aceptables: 10-12%<sup>18</sup>

$$\% \text{ Humedad} = \frac{W_b - W_a}{W_s} \times 100$$

$W_s$  = peso de la muestra (g)

$W_b$  = peso del crisol que contiene la muestra antes del secado (g)

$W_a$  = peso del crisol que contiene la muestra después del secado (g)

<sup>16</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Félix Varela; 2001. pp. 140-141

<sup>17</sup> Abdala S *et al*/ Zarzuelo A. Farmacognosia General. Madrid: Síntesis S.A; 2010. pp. 72-73

<sup>18</sup> Dutu Ligia E. Pharmacognostic Methods for Analysis of Herbal Drugs, According to European Pharmacopoeia: Loss on drying. Romania: INTECH; 2012.p. 47

<sup>19</sup> Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. Processing and Quality Control of Herbal Drugs and Their Derivatives. Brasil: INTECH; 2011.p. 212

## B.2.- DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES.

Las cenizas totales nos permite determinar la cantidad de material remanente después de la ignición: “cenizas fisiológicas”, derivados de los tejidos de la planta y “cenizas no fisiológicas”, que son el residuo después de la ignición de la materia extraña (polvo, arena, tierra, etc.), adherida a la superficie de la droga.<sup>20</sup>

### a) PROCEDIMIENTO.

- Se pesó 3 gramos de muestra vegetal (hojas de achiote) trituradas y se transfirió al crisol de porcelana limpio.
- Las hojas de achiote fueron carbonizadas en un horno de mufla a 450 °C durante 2 horas. Una vez que se enfrió el crisol que contenía la muestra, se pesó el crisol en una balanza analítica.<sup>21</sup>
- Límites aceptables: < 5%, mayor a este valor someter la droga a otros análisis.<sup>22</sup>

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{Z-X}{Y} \times 100$$

<sup>23</sup>

X = peso del crisol vacío (g).

Y = peso de la planta tomada (g).

Z = peso de la crisol con las cenizas (incineración completa) (g).

<sup>20</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Félix Varela; 2001. p. 139

<sup>21</sup> Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. Processing and Quality Control of Herbal Drugs and Their Derivatives. Brasil: INTECH; 2011. p. 211

<sup>22</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. op. cit., p. 140

<sup>23</sup> Ahmad T, Bahadur Singh S, Pandey S. Phytochemical screening and physicochemical parameters of crude drugs: A brief review. IJPRR [en línea] 2013 Noviembre 13 [fecha de acceso 4 de Mayo de 2016]; 2(12):53-60. Disponible en: <http://www.rroj.com> .p. 59



### C.- OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO POR DECOCCIÓN DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

La extracción por decocción consiste en colocar el material vegetal en contacto con un volumen dado de agua durante un periodo de 15 a 30 minutos para la extracción de los principios activos. Si la droga contiene taninos, se recomienda utilizar el método de decocción, de lo contrario no se extraen todos los taninos como principio activo.<sup>24</sup> Mientras que los heterósidos de los flavonoides son solubles en agua caliente.<sup>25</sup>

#### a) PROCEDIMIENTO.

- Se pesó 35 gramos de las hojas de achiote ya trituradas para asegurar una buena extracción que se llevó a decocción con 200 ml de agua destilada, durante 15 minutos en un vaso precipitado de vidrio limpio y resistente al calor, después se dejó enfriar el extracto.<sup>26</sup>
- Luego se procedió a la filtración a través de una gasa estéril y posteriormente con papel filtro.
- Finalmente el extracto filtrado fue el que se usó después para la preparación del gel.

**FIGURA 03:** Decocción de las hojas de achiote.



**Fuente:** elaboración propia.

<sup>24</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Félix Varela; 2001.p. 160

<sup>25</sup> Tránsito López Luengo M. Flavonoides [en línea] 2002 Abril [fecha de acceso 28 de Abril 2016]; 21(4): 108-113. Disponible en: [www.doymafarma.com](http://www.doymafarma.com). p.109

<sup>26</sup> Ahmad T, Singh Bahadur S, Pandey S, Tripathi S. Phytochemical screening and physicochemical Parameters of crude drugs: A brief review. IJPRR [en línea] 2013 Noviembre 30 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(12): 53-60. Disponible en: [www.ijpr.in](http://www.ijpr.in). pp. 54-55

## **D.- PARÁMETROS DE CALIDAD DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).**

### **D.1.- DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).**

Las propiedades organolépticas son descripciones de las características físicas que tiene la materia en general, según las pueden percibir los sentidos (aspecto, color, olor y sabor); una vez preparado los extractos.<sup>27</sup>

#### **a) PROCEDIMIENTO.**

- Aspecto: Se observó la consistencia del extracto acuoso.
- Color: Se observó el color que presentó el extracto acuoso.
- Olor: Se presencié el olor característico del extracto acuoso.
- Sabor: Se usó una pipeta que fue introducida al extracto acuoso para poder caracterizar su sabor.

### **D.2.- PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).**

#### **D.2.1.- DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD.**

La densidad o peso específico puede prestar un buen servicio en la identificación de algunas sustancias o drogas, particularmente las que se presentan en estado líquido. La determinación de esta constante en las drogas, según su naturaleza puede realizarse mediante diversos picnómetro.<sup>28</sup>

#### **a) PROCEDIMIENTO.**

- Se usó un picnómetro de 25 ml perfectamente limpio y seco.<sup>29</sup>

---

<sup>27</sup> Gennaro A. Remington Farmacia [libro electrónico]. Vol. I. 20ª ed. Argentina: Médica Panamericana; 2003 [citado 2016 Mayo 4]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books>. (acceso Noviembre 2015). pp. 873-874

<sup>28</sup> San Martín Casamada R. Farmacognosia General. 2ª ed. España: Científico- Médico; 1958. p. 320

<sup>29</sup> Farmacopea Argentina. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Vol. I. 7ª ed. Argentina: Farmacopea Argentina; 2003. p. 160

- Se determinó el peso del picnómetro vacío y el peso del agua destilada recientemente hervida y enfriada a 20 °C contenida en el mismo picnómetro.<sup>30</sup>
- Se llenó el picnómetro con el extracto acuoso de las hojas de achiote a 20 °C. Se ajustó la temperatura del picnómetro lleno a la misma temperatura, y se eliminó algún exceso del extracto con un pedazo de papel filtro, luego se pesó. Al peso obtenido, se sustrajo el peso del picnómetro vacío, y se aplicó la siguiente fórmula.<sup>31</sup>

$$\text{Densidad relativa } (\rho_r) = \frac{p_2 - p_0}{p_1 - p_0}$$

<sup>32</sup>

NOTA: si el picnómetro contiene menos de 20 ml, las pesadas deben efectuarse con una aproximación de  $\pm 0,001$  g; y si contiene más de 20 ml, con una aproximación de  $\pm 0,01$  g.

Densidad relativa  $(\rho_r) = (g/ml \text{ o } g/cm^3)$

$p_2$ = peso de la sustancia contenida en el picnómetro (g).

$p_0$ = peso del picnómetro vacío (g).

$p_1$ = peso del agua destilada contenida en el mismo picnómetro (g).

---

<sup>30</sup> Farmacopea Argentina. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Vol. I. 7ª ed. Argentina: Farmacopea Argentina; 2003. p. 160

<sup>31</sup> *Ibíd.*

<sup>32</sup> *Ibíd.*

## D.2.2.- DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD RELATIVA CON EL USO DEL VISCOSÍMETRO DE TUBO CAPILAR DE OSTWALD.<sup>33</sup>

La viscosidad relativa de una sustancia se refiere a la viscosidad con respecto a la viscosidad del agua a 20 °C; obteniéndose como cociente entre la viscosidad de la sustancia en cuestión y la del agua. Así los líquidos más viscosos al agua tendrán una viscosidad superior a 1, y los menos viscosos inferior a la unidad.<sup>34</sup>

La viscosidad de un líquido es constante a una temperatura dada y es un índice de su composición.<sup>35</sup>

### a) PROCEDIMIENTO.

- Se llenó el viscosímetro de Ostwald limpio y seco con el extracto acuoso de hojas de achiote por el tubo L, con una cantidad suficiente del extracto acuoso de las hojas de achiote a 20 °C para llenar el bulbo B.<sup>36</sup>
- Se sumergió el viscosímetro en un baño de agua a  $20,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ .<sup>37</sup>
- Se mantuvo en posición vertical y se dejó reposar durante 30 minutos para establecer el equilibrio térmico.<sup>38</sup>
- Se elevó el nivel del extracto acuoso de las hojas de achiote por el tubo mediante succión hasta la marca y llenar el bulbo A, después se procedió a tapan el tubo capilar con la mano.<sup>39</sup>

---

<sup>33</sup> Farmacopea Argentina. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Vol. I. 7ª ed. Argentina: Farmacopea Argentina; 2003.p. 190

<sup>34</sup> Rodríguez Mellano JM, Marín Galván R. Físicoquímica de aguas [libro electrónico]. España: Ediciones Díaz de Santos S.A; 1999 [citado 2016 Mayo 16]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books> (acceso Mayo 2016). p. 9

<sup>35</sup> Gautam A *et al*/ Kumar N. Identification, evaluation and standardization of herbal drugs: A review. *Der Pharmacia Lettre* [en línea] 2010 Diciembre 25 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(6): 302-315. Disponible en: [www.scholarsresearchlibrary.com](http://www.scholarsresearchlibrary.com). p.309

<sup>36</sup> Farmacopea Argentina. op. cit., p. 190

<sup>37</sup> *Ibíd.*

<sup>38</sup> *Ibíd.*

<sup>39</sup> *Ibíd.*

- Luego se abrió el tubo y se midió con un cronómetro el tiempo necesario para que el nivel del extracto descienda entre las marcas señaladas, el tiempo tomado en segundos. <sup>40</sup>
- Se realizó este procedimiento también con el agua destilada, por último se aplicó la siguiente fórmula.

$$\text{Viscosidad relativa } (n_r) = \frac{n_1}{n_2} = \frac{d_1 \times t_1}{d_2 \times t_2} \quad ^{41}$$

$(n_r)$  = viscosidad relativa.

$n_1$  = viscosidad del extracto.

$n_2$  = viscosidad del agua.

$d$  = densidad (g/ml o g/cm<sup>3</sup>).

$t$  = tiempo en segundos.

### D.2.3.- DETERMINACIÓN DE pH.

El pH es un índice numérico que se emplea para expresar el grado de acidez o alcalinidad de una solución. <sup>42</sup>

La determinación del pH se realiza empleando un medidor del pH calibrado, empleando un electrodo indicador que es sensible a la actividad del ión hidrógeno, como el electrodo de vidrio y un medidor de pH adecuado. <sup>43</sup>

<sup>40</sup> Farmacopea Argentina. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Vol. I. 7ª ed. Argentina: Farmacopea Argentina; 2003. p. 190

<sup>41</sup> Canales M, Hernández T, Meraz S, Peñalosa I. Físicoquímica [libro electrónico]. Vol. I. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 1999 [citado 2016 Mayo 16]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books> (acceso Mayo 2016). p. 129

<sup>42</sup> Farmacopea Argentina. op. cit., p. 250

<sup>43</sup> *Ibíd.*

**a) PROCEDIMIENTO.**

Se usó el potenciómetro ya calibrado, después se sumergió el electrodo en la solución madre (extracto acuoso de las hojas de achiote), se dejó un tiempo hasta que el valor tomado se estabilice y luego se grabó el valor. Se efectuó la medición del pH, después se registró el valor.<sup>44</sup>

**E.- ENSAYOS FITOQUÍMICOS CUALITATIVOS AL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).****E.1.- IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA DE METABOLITOS.**

Los ensayos fitoquímicos cualitativos son reacciones de coloración o precipitación, útiles debido a su sencillez, rapidez, y en general, se realizan directamente sobre un extracto alcohólico o un extracto acuoso por ser los más apropiados para detectar la presencia de los principios activos.<sup>45</sup>

**E.1.1.- RECONOCIMIENTO DE FLAVONOIDES CON LA PRUEBA DEL REACTIVO ALCALINO.****a) FUNDAMENTO.**

Un extracto botánico en presencia de una solución alcalina sirve para reconocer flavonoides por la coloración; por ejemplo: las antocianinas dan color azul, las flavonas e isoflavonas dan color rojizo, las chalconas dan color rojo o púrpura a rojizo, las flavonas y flavonol dan color amarillo, los flavonoles dan color anaranjado a café.<sup>46</sup>

---

<sup>44</sup> Farmacopea Argentina. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Vol. I. 7ª ed. Argentina: Farmacopea Argentina; 2003. p. 250

<sup>45</sup> Abdala S *et al*/ Zaruelo A. Farmacognosia General. Madrid: Síntesis S.A; 2010. p.67

<sup>46</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Félix Varela; 2011. p. 276

## b) PROCEDIMIENTO.

Se colocó 5 ml del extracto acuoso de las hojas de achiote en un tubo de ensayo limpio al que se agregó una solución de NaOH 10%.<sup>47</sup>

Dando una coloración de amarillo a rojo intenso que indica la presencia de flavonoides.<sup>48</sup>

**FIGURA 04:** Reconocimiento de flavonoides con hidróxido de sodio 10%.



*Fuente:* elaboración propia.

## E.1.2.- RECONOCIMIENTO DE SAPONINAS CON LA PRUEBA DE ESPUMA.

### a) FUNDAMENTO.

Las saponinas tienen la propiedad de disminuir la tensión superficial del agua, por lo que sus soluciones acuosas producen espuma, de manera similar al jabón.<sup>49</sup>

---

<sup>47</sup> Ahmad T, Singh Bahadur S, Pandey S, Tripathi S. Phytochemical screening and physicochemical Parameters of crude drugs: A brief review. IJPRR [en línea] 2013 Noviembre 30 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(12): 53-60. Disponible en: [www.ijpr.in](http://www.ijpr.in) .p.57

<sup>48</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. op. cit., p. 276

<sup>49</sup> Zavaleta Martínez A, Cabezas Sánchez C, Chang Neira J, Barnaby Rodríguez J. Análisis fitoquímico y el certificado de marcha fotoquímica. En: Registro y Control de Calidad de Recursos y Productos Naturales de Uso en Salud. Lima: Decisión Gráfica S.A.C; 1999. p. 40

## b) PROCEDIMIENTO.

Se colocó 1 ml del extracto acuoso de las hojas de achiote en un tubo de ensayo limpio, que se llevó a una agitación constante durante un minuto. Se observó si hay una formación abundante de espuma que indique la presencia de saponinas.<sup>50</sup>

**FIGURA 05:** Reconocimiento de saponinas con la prueba de espuma.



*Fuente:* elaboración propia.

## E.1.3.- RECONOCIMIENTO DE FENOLES CON EL REACTIVO DE CLORURO FÉRRICO.

### a) FUNDAMENTO.

Los fenoles reaccionan con el cloruro férrico ( $FeCl_3$ ) para dar sales férricas fenoxídicas coloreadas (azul-verde-violeta). Los ácidos hidroxámicos presentan coloración roja.<sup>51</sup>

<sup>50</sup> Zavaleta Martínez A, Cabezas Sánchez C, Chang Neira J, Barnaby Rodríguez J. Análisis fitoquímico y el certificado de marcha fotoquímica. En: Registro y Control de Calidad de Recursos y Productos Naturales de Uso en Salud. Lima: Decisión Gráfica S.A.C; 1999. p. 37

<sup>51</sup> *Ibid*, p. 34



## b) PROCEDIMIENTO.

Se colocó 5 ml del extracto acuoso de las hojas de achiote en un tubo de ensayo limpio al que se agregó de 3 a 4 gotas de cloruro férrico al 1%.<sup>52</sup>

Se observó la coloración verde-negrusco que indica presencia de fenoles.<sup>53</sup>

**FIGURA 06:** Reconocimiento de fenoles con el reactivo de cloruro férrico.



*Fuente:* elaboración propia.

## E.1.4.- RECONOCIMIENTO DE TANINOS CON EL REACTIVO GELATINA- SAL.

### a) FUNDAMENTO.

Se basa en la hidrólisis del tanino dando un compuesto fenólico y un azúcar, con la formación de un precipitado blanco.<sup>54</sup>

---

<sup>52</sup> Pandey A, Tripathi S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. JPP [en línea] 2013 Diciembre 25 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(5): 115-119. Disponible en: [www.phytojournal.com](http://www.phytojournal.com) .p.118

<sup>53</sup> *Ibíd.*

<sup>54</sup> Zavaleta Martínez A, Cabezas Sánchez C, Chang Neira J, Barnaby Rodríguez J. Análisis fitoquímico y el certificado de marcha fotoquímica. En: Registro y Control de Calidad de Recursos y Productos Naturales de Uso en Salud.Lima: Decisión Gráfica S.A.C; 1999. p. 34

## b) PROCEDIMIENTO.

Se colocó 1 ml del extracto acuoso de las hojas de achiote en tubo de ensayo limpio, luego se agregó un 1 ml de la solución del reactivo gelatina-sal al 1% (gelatina 1% con 10% de cloruro de sodio).<sup>55</sup>

Se observó la formación de un precipitado blanco que indica la presencia de taninos.<sup>56</sup>

**FIGURA 07:** Reconocimiento de taninos con el reactivo gelatina-sal.



**Fuente:** elaboración propia.

## F.- FORMULACIÓN DEL GEL HIDRÓFILO ELABORADO A BASE DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

### F.1.- FORMULACIÓN DEL GEL HIDRÓFILO DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.

La formulación de un gel hidrófilo, consiste en la preparación de un gel de carbopol base. Para minimizar la pérdida de agua en los geles de una sola fase se agregan humectantes, como el propilenglicol, glicerina o sorbitol.<sup>57</sup>

<sup>55</sup> Pandey A, Tripathi S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. JPP [en línea] 2013 Diciembre 25 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(5): 115-119. Disponible en: [www.phytojournal.com](http://www.phytojournal.com) .p.118

<sup>56</sup> *Ibíd.*

<sup>57</sup> Gennaro A. Remington Farmacia [libro electrónico]. Vol. I. 20ª ed. Argentina: Médica Panamericana; 2003 [citado 2016 Mayo 4]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books>. (acceso Noviembre 2015). p. 869

El extracto acuoso de las hojas de achiote actuó en el gel como solvente (vehículo), la glicerina como humectante y co-disolvente, la trietanolamina cumple el papel de regulador de pH, los parabenos actuaron como conservantes antimicrobianos, el EDTA es el agente sinérgico antioxidante y quelante metálico; por último está el carbopol que es el gelificante.<sup>58,59</sup> De hecho el agua se considera un potenciador de la penetración natural en la piel en una formulación tópica, y el aumento de la hidratación del estrato córneo aumenta la permeabilidad de la piel.<sup>60</sup>

Los geles a menudo promueven una liberación rápida de la droga, independientemente de la hidrosolubilidad de la droga en comparación con las cremas y pomadas.<sup>61</sup> Los geles son relativamente más fáciles de preparar comparados con los ungüentos y cremas. Además del agente gelificante, los geles medicados contienen el fármaco, conservantes antimicrobianos, estabilizantes, agentes dispersantes y potenciadores de la penetración.<sup>62</sup>

**Rp. Gel hidrófilo de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18%.**

Extracto de hojas de achiote 18%	100 ml
Carbopol 940	2 g
Trietanolamina	1.65 ml
Glicerina	2 ml
Metil parabeno	0.18 g
Propil parabeno	0.02 g
EDTA	0.02 g

**Fuente:** elaboración propia.

---

<sup>58</sup> Gibson M. Pharmaceutical Preformulation and Formulation. Vol. 199. 2ª ed. Estados Unidos: Informa Healthcare USA; 2009. pp. 498-503

<sup>59</sup> Benson H, Watkinson AL. Transdermal and Topical Drug Delivery: principles and practice. Estados Unidos: John Wiley & Sons, INC, Publication; 2012. pp. 265-266

<sup>60</sup> *Ibíd*, p. 18

<sup>61</sup> Gennaro A. Remington Farmacia [libro electrónico]. Vol. I. 20ª ed. Argentina: Médica Panamericana; 2003 [citado 2016 Mayo 4]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books>. (acceso Noviembre 2015). p. 868

<sup>62</sup> Abrahmsén – Alami S *et al* Zhai H. Pharmaceutical Manufacturing Handbook. Estados Unidos: John Wiley & Sons, INC, Publication; 2008. p. 293

**a) PROCEDIMIENTO**

- Se realizó la elaboración con la fórmula base “Gel de carbopol” tomado del libro electrónico de Remington Farmacia Vol I. 20ª ed. de Gennaro A. y reformulada.
- Se diluyó 2 g de carbopol en 100 ml del extracto acuoso de las hojas de achiote consiguiéndose el entrelazamiento de las moléculas del carbopol y por ende la formación del gel.
- Se agitó constantemente teniendo cuidado para evitar la formación de aglomerados, después se le colocó 1.65 ml de trietanolamina para neutralizar el gel a un pH de 7,16.
- Luego se le adicionó 2 ml de glicerina, luego 0.18 g de metil parabeno, 0.02 g de propil parabeno y por último 0.02 g de EDTA, finalmente se envasó el gel en un frasco de vidrio con tapa rosca para ser usado después.

**FIGURA 08:** Elaboración del gel hidrófilo de las hojas de achiote 18%

**Fuente:** elaboración propia.

## **G.- CONTROL DE CALIDAD AL PRODUCTO FARMACÉUTICO TERMINADO.**

### **G.1.- LAS PROPIEDADES FÍSICAS DEL GEL ELABORADO A BASE DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.**

Se inspeccionan las características de color, homogeneidad, consistencia, olor, sensación después de la aplicación; como sensación de arenilla, untuosidad, pegajosidad o suavidad en los geles.<sup>63</sup>

Las formas farmacéuticas semisólidas tópicas deben tener consistencia uniforme. Cuando una muestra se frota en la parte posterior de la mano, no debe haber componentes que se noten en la piel.<sup>64</sup>

Todos los geles preparados deben ser probados para homogeneidad con la inspección visual después de que los geles son fijados en el envase y la presencia de agregado.<sup>65</sup>

#### **a) PROCEDIMIENTO.**

**a.1) Determinación del aspecto:** Una vez envasado el gel se observó la homogeneidad del gel, sin agregados.

**a.2) Determinación del color:** Con una tira de papel filtro se introdujo en un extremo del gel, donde se percibió el color amarillo-pardo que presentó el gel característico al extracto acuoso de achiote.

**a.3) Determinación del olor:** Con el uso del sentido olfativo se percibió el olor herbal característico a las hojas de achiote emitido de la formulación del gel.

---

<sup>63</sup> Kumari K, Sachdeva S, Sachdeva M. Formulation and evaluation of topical hydrogel of mometasone furoate using different polymers. Der Pharmacia Lettre [en línea] 2013 Enero 01 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(1): 89-100. Disponible en: [www.ijpcsonline.com](http://www.ijpcsonline.com) .p.92

<sup>64</sup> Comité de expertos de la WHO. La Farmacopea Internacional [libro electrónico]. 5ª ed. Estados Unidos: La Farmacopea; 2015 [citado 2016 Mayo 4]. Disponible en: <http://apps.who.int>. p. 1

<sup>65</sup> Tahsildar Apeksha Ganesh T, Dattatraya Manohar S, Ravindra S. Hidrogel: A novel technique for preparation of topical gel. WJPPS [en línea] 2013 Octubre 24 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(6):4520-4541. Disponible en: [www.wjpps.com](http://www.wjpps.com) .p.4536

**a.4) Determinación de la sensación al tacto:** A través del sentido del tacto se describió la sensación después de la aplicación de una pequeña porción del gel en el dorso de la mano, presentando la sensación de suavidad.

**a.5) Revisión de grumos:** Se tomó una pequeña cantidad del gel con los dedos, que fue aplicado en el dorso de la mano para observar la presencia o ausencia de grumos.

**FIGURA 09:** Gel de hojas de achiote al 18% envasado a 40 g.



**Fuente:** elaboración propia.

#### **G.1.1.- DETERMINACIÓN DEL pH AL GEL DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.**

Los polímeros muestran características de hinchamiento y gelificación dependientes del pH en medios acuosos. Un polímero que exhibe tales propiedades de transición de fase es muy útil desde el punto de administración del fármaco. Cuando aumenta el pH, se somete a un sol (disolución) a transición gel, debido al aumento en el grado de ionización de los grupos ácidos carboxílicos en condiciones de pH más altos se evidencia el aumento de la hidrofilia y el hinchamiento.<sup>66</sup>

<sup>66</sup> Abrahmsén – Alami S *et al* Zhai H. Pharmaceutical Manufacturing Handbook. Estados Unidos: John Wiley & Sons, INC, Publication; 2008. p. 293

Los cambios en el pH del producto también indican la descomposición química. El estrato córneo es notablemente resistente a las alteraciones del pH, tolerando una amplia gama de 3 a 9.<sup>67</sup>

Los carbómeros, la goma de agar, el hidroxipropilcelulosa, el poloxámero y la goma de tragacanto forman geles en condiciones de pH débilmente ácido o casi neutro, a un pH de 5 – 8.<sup>68</sup>

La viscosidad se reduce considerablemente a valores de pH inferiores a 3, mayores de 12 y en presencia de electrólitos fuertes pueden afectar la estabilidad física global del gel.<sup>69</sup>

#### **a) PROCEDIMIENTO.**

El pH de la formulación del gel se determinó mediante el uso de un potenciómetro calibrado.

- Primero se disolvió 1 gramo del gel de hojas de achiote al 18% en 100 ml de agua destilada contenida en un vaso de precipitado limpio y seco, luego se almacenó durante 2 horas.<sup>70</sup>
- Después se introdujo el electrodo en la disolución del gel. La medición del pH se realizó por triplicado y se registró los valores, luego se sacó el valor promedio.<sup>71</sup>
- Rango de pH: 5-8<sup>72</sup>

### **G.2.- IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS CUALITATIVAMENTE EN EL GEL ELABORADO A BASE DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.**

<sup>67</sup> Thakare VM, Tekade BW, Patil BR. Formulation and characterisation of ketoprofen tropical gel. IJPCPCR [en línea] 2014 Enero 01 [fecha de acceso 15 de Mayo 2016]; 4(1): 35-42. Disponible en: [www.ijcpcr.com](http://www.ijcpcr.com). p.36

<sup>68</sup> Abrahmsén – Alami S *ét al* Zhai H. Pharmaceutical Manufacturing Handbook. Estados Unidos: John Wiley & Sons, INC, Publication; 2008. p. 302

<sup>69</sup> Rowe R, Sheskey PJ, Quinn M E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6ª ed. Estados Unidos: Pharmaceutical Pres; 2009.p. 112

<sup>70</sup> Tahsildar Apeksha Ganesh T, Dattatraya Manchar S, Ravindra S. Hidrogel: A novel technique for preparation of topical gel. WJPPS [en línea] 2013 octubre 24 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(6):4520-4541. Disponible en: [www.wjpps.com](http://www.wjpps.com) .pp.4533-4534

<sup>71</sup> *Ibíd.*

<sup>72</sup> Abrahmsén – Alami S *ét al* Zhai H. op. cit., p. 302

Los ensayos fitoquímicos que se realizaron al extracto también se realizaron al gel tomando en cuenta los resultados que se obtuvieron del ensayo fitoquímico al extracto, se realizaron las pruebas fitoquímicas de reconocimiento de taninos; flavonoides y fenoles.

### **G.2.1.- RECONOCIMIENTO DE FLAVONOIDES CON LA PRUEBA DEL REACTIVO ALCALINO.**

#### **a) FUNDAMENTO.**

Los flavonoides reaccionan en presencia de una solución alcalina dando coloraciones; por ejemplo: las antocianinas dan color azul, las flavonas e isoflavonas dan color rojizo, las chalconas dan color rojo o púrpura a rojizo, las flavonas y flavonol dan color amarillo, los flavonoles dan color anaranjado a café.<sup>73</sup>

#### **b) PROCEDIMIENTO.**

Se colocó una porción de gel de hojas de achiote en un tubo de ensayo limpio, luego se agregó una solución de hidróxido de sodio al 10% y se mezcló.<sup>74</sup> Se observó una coloración de amarillo a rojizo del gel de hojas de achiote, que indica la presencia de flavonoides.<sup>75</sup>

### **G.2.2.- RECONOCIMIENTO DE TANINOS CON LA PRUEBA DEL REACTIVO CLORURO FÉRRICO.**

#### **a) FUNDAMENTO.**

Los taninos hidrolizables y condensados se pueden diferenciar según el color o precipitación con sales férricas, Los taninos hidrolizables dan coloraciones azul-negruzco y los taninos condensados dan pardo-verdoso.<sup>76</sup>

---

<sup>73</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Félix Varela; 2011. p. 276

<sup>74</sup> Ahmad T, Singh Bahadur S, Pandey S, Tripathi S. Phytochemical screening and physicochemical Parameters of crude drugs: A brief review. IJPRR [en línea] 2013 Noviembre 30 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(12): 53-60. Disponible en: [www.ijpr.in](http://www.ijpr.in) .p.57

<sup>75</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. op. cit., p. 276

<sup>76</sup> Abdala S *et al*/ Zaruelo A. Farmacognosia General. Madrid: Síntesis S.A; 2010. p. 230



**b) PROCEDIMIENTO.**

Se colocó una porción de gel de hojas de achiote en un tubo de ensayo limpio, luego se agregó una gotas de cloruro férrico al 1%, seguidamente se mezcló.<sup>77</sup>

Se observó una coloración verde-negrucza del gel de hojas de achiote, que indica la presencia de taninos condensados.<sup>78</sup>

**G.2.3.- RECONOCIMIENTO DE FENOLES CON LA PRUEBA DEL REACTIVO CLORURO FÉRRICO.****a) FUNDAMENTO.**

Los fenoles reaccionan con el cloruro férrico ( $FeCl_3$ ) para dar sales férricas fenoxídicas coloreadas (azul-verde-violeta).<sup>79</sup> Los fenoles tiene la capacidad de formar complejos, por lo que dan positivo en el test de cloruro férrico.<sup>80</sup>

**b) PROCEDIMIENTO.**

Se colocó una porción de gel de hojas de achiote en un tubo de ensayo limpio, luego se agregó una solución de cloruro férrico al 1%, después se mezcló.<sup>81</sup>

Se observó una coloración verde-negruczo del gel de hojas de achiote, que indica la presencia de fenoles.<sup>82</sup>

---

<sup>77</sup> Ahmad T, Singh Bahadur S, Pandey S, Tripathi S. Phytochemical screening and physicochemical Parameters of crude drugs: A brief review. IJPRR [en línea] 2013 Noviembre 30 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(12): 53-60. Disponible en: [www.ijpr.in](http://www.ijpr.in) .p.57

<sup>78</sup> *Ibíd.*

<sup>79</sup> Zavaleta Martínez A, Cabezas Sánchez C, Chang Neira J, Barnaby Rodríguez J. Análisis fitoquímico y el certificado de marcha fotoquímica. En: Registro y Control de Calidad de Recursos y Productos Naturales de Uso en Salud. Lima: Decisión Gráfica S.A.C; 1999. p. 37

<sup>80</sup> Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. España: Ediciones Omega; 2006. p. 97

<sup>81</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Félix Varela; 2011. p. 357

<sup>82</sup> *Ibíd.*

### **G.3.- ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO AL GEL ELABORADO A BASE DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.**

En algunos países, los fármacos a base de hierbas para uso oral o tópico, producidos por infusiones, decocciones y maceración, tienen leyes diferentes en comparación con fármacos vegetales presentados en forma de cápsulas, tinturas, tabletas, extractos y jarabes. Sin embargo, en general, las pruebas utilizadas para verificar la presencia de microorganismos en fármacos vegetales no muestran variación significativa y siguen las recomendaciones utilizadas para los productos farmacéuticos no estériles.<sup>83</sup>

#### **A.- DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE (MESÓFILOS AEROBIOS, MOHOS Y LEVADURAS).**

La presencia de ciertos microorganismos en preparaciones no estériles puede tener el potencial de reducir y hasta inactivar la actividad terapéutica del producto y de afectar adversamente la salud del paciente.<sup>84</sup>

Los fabricantes deben asegurar una baja biocarga de microorganismos, entre los factores claves para garantizar la reducción del número de microorganismos en la fabricación de los productos farmacéuticos, cabe mencionar el cumplimiento estricto del control en las prácticas de limpieza de los equipos, en los ambientes de trabajo y buenos hábitos de higiene personal.<sup>85</sup>

---

<sup>83</sup> Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. Processing and Quality Control of Herbal Drugs and Their Derivatives. Brasil: INTECH; 2011.p. 204

<sup>84</sup> Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 30. Vol I. 30ª ed. Estados Unidos: Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América; 2007.p. 64

<sup>85</sup> *Ibid.*

La importancia de los microorganismos en los productos farmacéuticos no estériles se debe evaluar conforme al uso del producto, la naturaleza del producto y el peligro potencial para los usuarios; para lo cual se indica un límite específico para el recuento total de microorganismos aerobios viables y/o para el recuento total de hongos y levaduras, también es necesario tener en cuenta que el procesamiento del producto debe asegurar un producto de calidad aceptable para fines farmacéuticos. <sup>86</sup>

#### **a) PROCEDIMIENTO.**

- Se colocó 10 gramos del gel de hojas de achiote al 18% en un matraz que contenía 90 ml de Caldo Nutriente que es el diluyente, y se llevó a agitación por unos minutos.<sup>87</sup>
- A partir de esta primera dilución, se transfirió un 1 ml a tubos que contenían 9 ml del diluyente, que fue el Caldo Nutriente, a fin de obtener diluciones en serie de  $10^{-1}$ ;  $10^{-2}$ ;  $10^{-3}$ , para cada dilución se procedió a una agitación para la mezcla con el Caldo Nutriente. <sup>88</sup>

#### **1) Conteo de mesófilos aerobios.**

- De cada dilución que se preparó se transfirió volúmenes de 0,1 ml a placas de Petri por duplicado con Agar Nutriente para el recuento de mesófilos aerobios.<sup>89</sup>
- La difusión se llevó a cabo con la ayuda de la espátula de Drigalski o una varilla de vidrio estéril. <sup>90</sup>
- En el caso de las bacterias (mesófilos aerobios), la incubación fue a 30°C a 35°C durante 48 a 72 horas.<sup>91</sup>

---

<sup>86</sup> Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 30. Vol I. 30ª ed. Estados Unidos: Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América; 2007.p. 645

<sup>87</sup> Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. Processing and Quality Control of Herbal Drugs and Their Derivatives. Brasil: INTECH; 2011.p. 205

<sup>88</sup> *Ibíd.*

<sup>89</sup> *Ibíd.*

<sup>90</sup> *Ibíd.*, p. 206

<sup>91</sup> *Ibíd.*

- Se seleccionaron las placas correspondientes a una dilución dada y que muestran un número de colonias menos de 250 para el conteo de mesófilos aerobios.<sup>92</sup>
- Se tomó el promedio por medio de cultivo de las colonias contadas y se calculó el número de UFC por gramo del gel de hojas de achiote al 18%.<sup>93</sup>
- Límites permitidos: Mesófilos aerobios:  $10^2$ UFC/g ( $10^2$  microorganismos: recuento máximo aceptable: 200)<sup>94</sup>

## 2) Conteo de mohos-levaduras.

- De cada dilución que se preparó se transfirió volúmenes de 0,1 ml a placas de Petri por duplicado con Agar Sabouraud.<sup>95</sup>
- La difusión se llevó a cabo con la ayuda de la espátula de Drigalski o una varilla de vidrio estéril.<sup>96</sup>
- Para los hongos, la incubación se dio a las temperaturas de 20 °C a 25 °C durante 5-7 días por lo menos.<sup>97</sup>
- Se seleccionaron las placas correspondientes a una dilución dada y que muestran un número de colonias menos de 50 para el conteo de mohos-levaduras.<sup>98</sup>
- Se tomó el promedio por medio de cultivo de las colonias contadas y se calculó el número de UFC por gramo del gel de hojas de achiote al 18%.<sup>99</sup>
- Límites permitidos: Mohos-levaduras:  $10^1$ UFC/g ( $10^1$  microorganismos: recuento máximo aceptable: 20)<sup>100</sup>

---

<sup>92</sup> Comité de expertos de la WHO. La Farmacopea Internacional [libro electrónico]. 5ª ed. Estados Unidos: La Farmacopea; 2015 [citado 2016 Mayo 4]. Disponible en: <http://apps.who.int>. p. 5

<sup>93</sup> Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 30. Vol I. 30ª ed. Estados Unidos: Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América; 2007.p. 94

<sup>94</sup> Farmacopea Europea. 7ª ed. Europa: Farmacopea Europea; 2011. p. 507

<sup>95</sup> Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. Processing and Quality Control of Herbal Drugs and Their Derivatives. Brasil: INTECH; 2011.p. 205

<sup>96</sup> *Ibid.*, p. 206

<sup>97</sup> *Ibid.*

<sup>98</sup> Comité de expertos de la WHO. *op. cit.*, p. 5

<sup>99</sup> Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. *op. cit.*, p. 94

<sup>100</sup> Farmacopea Europea. *op. cit.*, p. 507

## **B.-DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS OBJETABLES (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.)**

Para ciertas categorías de productos se recomienda efectuar regularmente pruebas para determinar el recuento microbiano total y la ausencia de ciertos contaminantes microbianos específicos, por ejemplo la ausencia de *Salmonella spp.* en productos de origen animal, vegetal, y en ciertos productos minerales; la ausencia de *Escherichia coli* en suspensiones y soluciones de administración oral; la ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* y de *Staphylococcus aureus* en artículos de aplicación tópica; y la ausencia de levaduras y hongos filamentosos en artículos de administración por vía rectal, uretral o vaginal.<sup>101</sup>

Los productos farmacéuticos no estériles deben ser evaluados conforme al uso del producto, la naturaleza del producto y el peligro potencial para los usuarios. Por otra parte, también es necesario tener en cuenta que el procesamiento del producto debe asegurar un producto de calidad aceptable para fines farmacéuticos.<sup>102</sup>

### **a) PROCEDIMIENTO.**

- Se colocó 10 gramos del gel en un matraz que contenía 90 ml de Caldo Nutritivo, y se procedió a la agitación.<sup>103</sup>
- El Caldo Nutritivo fue usado para diluyente para el crecimiento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, que se llevó a incubación durante 24 horas a 30 °C - 35 °C.<sup>104</sup>
- A continuación, las alícuotas se transfirieron a medios de cultivo para el aislamiento y la diferenciación.<sup>105</sup>

---

<sup>101</sup> Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 30. Vol I. 30ª ed. Estados Unidos: Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América; 2007.p. 645

<sup>102</sup> *Ibíd.*

<sup>103</sup> Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. Processing and Quality Control of Herbal Drugs and Their Derivatives. Brasil: INTECH; 2011.p. 206

<sup>104</sup> *Ibíd.*

<sup>105</sup> *Ibíd.*

### 1) IDENTIFICACIÓN DE *Escherichia coli*.

- Se sembró una alícuota de la primera dilución del gel de hojas de achiote al 18% en el Caldo Nutritivo a dos placas con el medio selectivo del Agar Mac Conkey, se llevó a incubación a 37 °C durante 24-48 horas.<sup>106</sup>
- Se observó si hay crecimiento de colonias típicas de la bacteria de color rojas, en presencia de colonias típicas continuar con pruebas bioquímicas.<sup>107</sup>
- Límites permitidos: Ausencia de *Escherichia coli* en 1 gramo.<sup>108</sup>

### 2) IDENTIFICACIÓN DE *Staphylococcus aureus*.

- Se sembró una alícuota de la primera dilución del gel de hojas de achiote al 18% en el Caldo Nutriente a dos placas con el medio selectivo del Agar Manitol Salado, y se llevó a incubación a 37 °C durante 24-48 horas.<sup>109</sup>
- Se observó si hay crecimiento de colonias típicas de la bacteria de color amarillas brillantes, en presencia de crecimiento de colonias típicas continuar con la prueba de coagulasa.<sup>110</sup>
- Límites permitidos: Ausencia de *Staphylococcus aureus* en 1 gramo.<sup>111</sup>

### 3) IDENTIFICACIÓN DE *Pseudomonas aeruginosa*.

- Se sembró una alícuota de la primera dilución del gel de hojas de achiote al 18 % en el Caldo Nutriente a dos placas con Agar Nutriente, y se llevó a incubación a 37 °C durante 24-48 horas.<sup>112</sup>

---

<sup>106</sup> Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. Processing and Quality Control of Herbal Drugs and Their Derivatives. Brasil: INTECH; 2011. p. 206

<sup>107</sup> Ibíd, p. 208

<sup>108</sup> Farmacopea Europea. 7ª ed. Europa: Farmacopea Europea; 2011. p. 507

<sup>109</sup> Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. op. cit., p. 206

<sup>110</sup> Ibíd, p. 207

<sup>111</sup> Farmacopea Europea. op. cit., p. 507

<sup>112</sup> Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. op. cit., p. 206

- Se observó si hay crecimiento de colonias típicas de color verdosas con olor frutal,<sup>113</sup> en presencia de colonias típicas continuar con la prueba de oxidasa.<sup>114</sup>
- Límites permitidos: Ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* en 1 gramo.<sup>115</sup>

## H.- MANEJO Y CUIDADO DE LAS RATAS WISTAR.

El mantenimiento de los animales en buen estado de salud, dependió de las formas de trabajo para mantener las barreras sanitarias. Un buen programa de cuidado y manejo ofrece el ambiente y alimentación que permite a los animales mantener una buena salud. <sup>116</sup>

### a) PROCEDIMIENTO.

- Las 10 ratas (*Rattus wistar*) estuvieron un tiempo de cuarentena, después de su adquisición del Bioterio de la Universidad Nacional de San Agustín no menos de 15 días para su adaptación. <sup>117</sup>
- Se los alimentó con maíz fresco y se les brindó agua todos los días y se limpió la jaula constantemente y antes de las 24 horas de realizar el estudio. <sup>118</sup>

## I.- MEDICIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.

### a) FUNDAMENTO.

**Escisión de herida:** Se utilizó el modelo de herida por escisión para el estudio de la tasa de contracción de la herida y la epitelización de la misma. Estos tipos de heridas se preparan ya sea en ratas o cobayos.<sup>119</sup>

<sup>113</sup> Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. Processing and Quality Control of Herbal Drugs and Their Derivatives. Brasil: INTECH; 2011. p. 208

<sup>114</sup> Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 30. Vol I. 30ª ed. Estados Unidos: Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América; 2007.p. 95

<sup>115</sup> Farmacopea Europea. 7ª ed. Europa: Farmacopea Europea; 2011. p. 507

<sup>116</sup> Fuentes Paredes FM, Mendoza Yanavilva RA, Rosales Fernández AL, Cisneros Tarmeño RA. Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Ratón: Cuidado y manejo de ratones. ed. Lima: Gráfica Técnica S.R.L; 2008.p.33

<sup>117</sup> *Ibíd*, pp.33-34

<sup>118</sup> *Ibíd*.

<sup>119</sup> Subalakshmi M *et al*/Mural R. An overview of the current methodologies used for the evaluation of drugs having wound healing activity. IJEPJOURNAL [en línea] 2014 [fecha de acceso 2 de Mayo de 2016]; 4(2):127-131. Disponible en: [www.ijepjournal.com](http://www.ijepjournal.com). p. 128

## b) PROCEDIMIENTO.

- Se procedió a rasurar el lomo de las ratas Wistar con una crema depilatoria, luego la zona se limpió antes de producir una herida con un desinfectante en este caso se usó alcohol de 70°
- Se colocó una capa de la pomada de lidocaína al 5% en el lomo de las ratas Wistar y se dejó 3 a 5 minutos sobre el lomo de las ratas Wistar para producir el efecto anestésico.
- Después se usó una hoja de bisturí N° 21 para inducir la herida a través de la adición de la fuerza sobre el lomo de las ratas Wistar, la herida que se generó fue de 2 cm de largo y de 2 mm de profundidad. <sup>120,121</sup> (ver Anexo 07, las figuras 27, 28 y 29)
- Se procedió a dividir la muestra en dos grupos cada uno de 5 ratas Wistar, debidamente identificados. (ver Anexo 07, figuras 30 y 31).
- Las heridas de las ratas Wistar del grupo control no llevaron tratamiento y el grupo experimental tuvieron tratamiento con el gel de hojas de achiote al 18%.
- Se colocó el gel de hojas de achiote al 18% en las heridas de las ratas Wistar del grupo experimental cada 12 horas, sin producirles irritación cutánea. <sup>122</sup> (ver Anexo 07, la figura 32)
- Se procedió a la medición de la zona cicatrizada de las heridas una vez producidas en las ratas Wistar del grupo experimental y control hasta el cierre total de la herida<sup>123</sup>, durante varios días que se fue anotando en la hoja de registro de datos (ver en el Anexo 08 y 09 ).
- Se observó los cambios progresivos hasta el cierre de la herida con la caída total de la costra consiguiéndose la epitelización y la restauración de la barrera funcional de la piel del grupo control y el grupo experimental. <sup>124</sup> (ver Anexo 07, la figura 33)

---

<sup>120</sup> Subalakshmi M *ét al* Mural R. An overview of the current methodologies used for the evaluation of drugs having wound healing activity. IJEPJOURNAL [en línea] 2014 [fecha de acceso 2 de Mayo de 2016]; 4(2):127-131. Disponible en: [www.ijepjournal.com](http://www.ijepjournal.com). p. 128

<sup>121</sup> Kumar V, Nagarajan K, Abdullah Khan A. Animal models for the evaluation of wound healing activity. Internacional Bulletin of Drug [en línea] 2016 Abril 22 [fecha de acceso 2 de Mayo de 2016]; 3(5):93-107. Disponible en: <http://www.researchgate.net/publication/274010528>. p. 96

<sup>122</sup> Thakur R, Jain N, Pathak R, Singh Sandhu S. Practices in wound Healing studies of plants. Hindawi [en línea] 2011 Febrero 24 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2011(438056): 1-17. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/51455279\\_Practices\\_In\\_Wound\\_Healing\\_Studies\\_Of\\_Plants](https://www.researchgate.net/publication/51455279_Practices_In_Wound_Healing_Studies_Of_Plants). p.9

<sup>123</sup> Subalakshmi M *ét al* Mural R. op. cit., p. 129

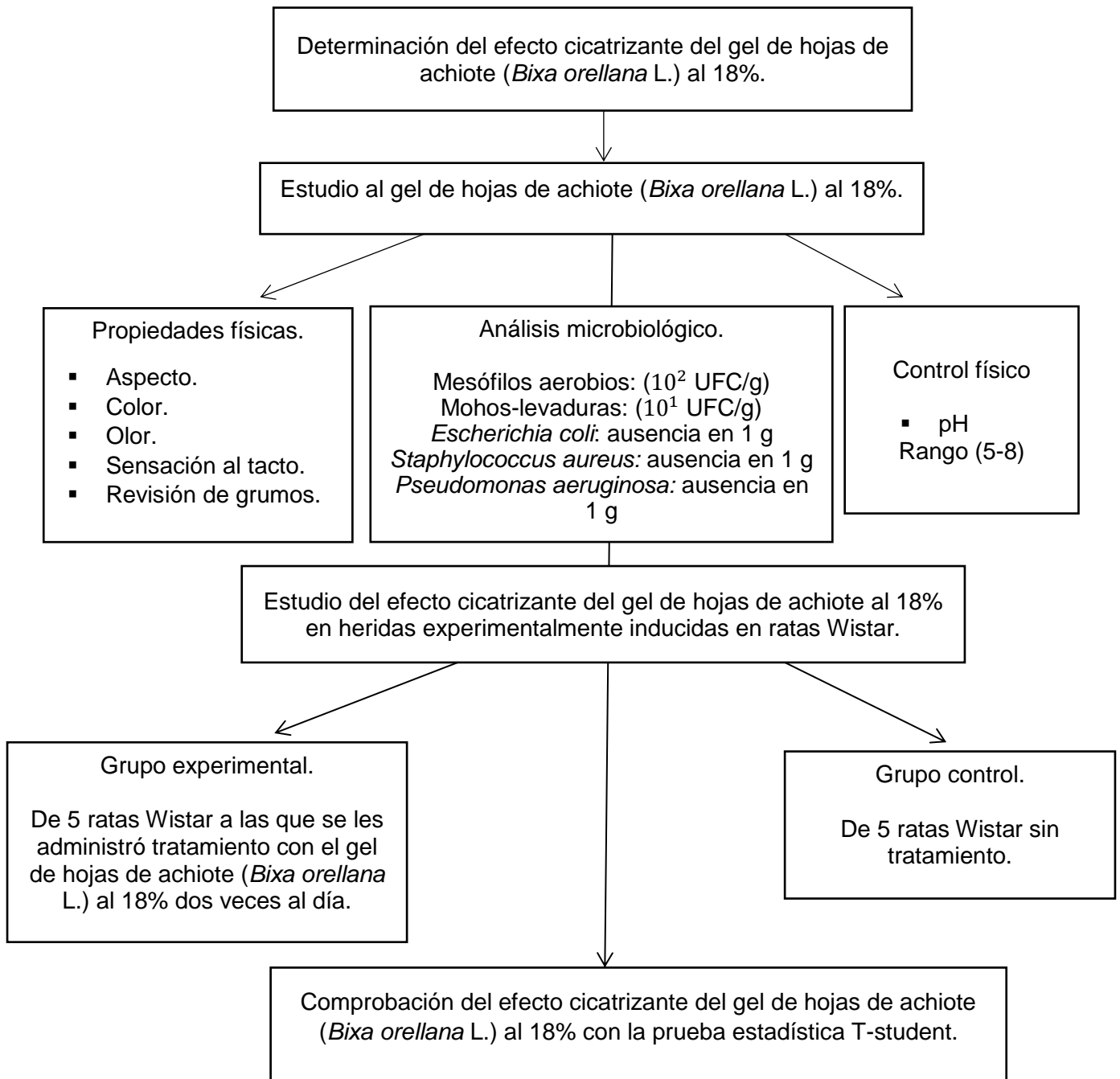
<sup>124</sup> *Ibíd.*



### 1.10.2.- Diseño de la investigación.

Es una investigación donde se usó el diseño experimental, en la cual se realiza una acción con manipulación intencional para después observar las consecuencias (efectos consecuentes).

**DIAGRAMA DE FLUJO 01:** Proceso del diseño experimental de la investigación.



**Fuente:** elaboración propio.

## 1.11.- Técnicas e instrumentos de recolección de información.

### 1.11.1.- Técnica.

La principal técnica de recolección de datos:

- La observación directa para contemplar todos los aspectos inherentes a su comportamiento y características en el grupo de estudio, con el registro de datos de las medidas de cicatrización de las heridas inducidas en las ratas (*Rattus wistar*).

### 1.11.2.- Instrumentos.

- Hoja de registro de datos de las medidas de cicatrización de las heridas inducidas en las ratas (*Rattus wistar*) según el tiempo.

#### A. Material:

- Baguetas.
- Embudo de vidrio.
- Frascos con tapa rosca y de color ámbar.
- Gradilla.
- Gasa estéril.
- Lunas de reloj.
- Mortero y pistilos.
- Matraces.
- Placas Petri.
- Probeta.
- Vasos de precipitado.

#### B. Equipos:

- Estufa.
- Balanza.
- Mufla.
- Picnómetro.
- Potenciómetro.
- Viscosímetro de Ostwald.

#### C. Reactivos:

- Agua destilada.

- Agares (Mac Conkey, Manitol Salado, Saboraud, Nutriente)
- Caldo (Nutriente).
- Cloruro férrico 1%.
- Carbopol 940
- EDTA.
- Glicerina.
- Gelatina-sal 1%.
- Hidróxido de sodio al 10%
- Trietanolamina.
- Parabenos (metil y propil parabeno).

D. Material biológico.

- Hojas de achiote (*Bixa orellana* L).
- Ratas (*Rattus wistar*).

## 1.12.- Cobertura del estudio.

### 1.12.1.- Universo.

Con un universo infinito de ratas "*Rattus wistar*". La población estuvo constituida por ratas "*Rattus wistar*" del Bioterio de la Universidad Nacional San Agustín. Se utilizaron los siguientes criterios de selección:

#### A) Criterios de inclusión.

Los animales utilizados para el desarrollo del presente trabajo fueron ratas "*Rattus wistar*" macho de la misma camada, de 3 meses de edad aparentemente sanos y con un peso promedio de 250-300 gramos.

#### B) Criterios de exclusión.

Ratas Wistar hembras, con un peso inferior a 250 gramos.

### 1.12. 2.- Muestra.

Muestra de animales de experimentación: 10 ratas "*Rattus wistar*". (ver página 58)

Muestra vegetal: 35 g de hojas de achiote.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1.- Antecedentes investigativos.

##### 2.1.1.- Fundamento teórico de la investigación.

1.- Kember Mejía y Eisa Rengifo. "Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía peruana". Lima, Perú 2000.

En este libro se describe el uso de las hojas de achiote (*Bixa orellana*) con los siguientes efectos fitoterapéuticos:

- Antiséptico vaginal y cicatrizante: Poner de 9 a 12 hojas macerando durante una noche en un litro de agua. El líquido se aplica en lavados vaginales.
- Hepatitis: Tomar la decocción de las yemas foliares.
- Vómitos: En infusión, poner tres hojas por cada taza y tomar una taza tres veces al día.
- Infecciones de la piel: Dejar de 9 a 12 hojas en un litro de agua durante una noche y aplicar después sobre la lesión.

2.- Priyanka Gupta y Rajiv Gandhi. “*Bixa orellana*: una revisión de su fitoquímica, usos tradicionales y farmacológicos”. Sherganj Road, Satna, India 2016.

En la presente investigación se realizó el análisis fitoquímico a los extractos de las hojas y semillas de achiote donde se encontró la presencia de flavonoides, taninos, saponinas y esteroides.

En este estudio el porcentaje del rendimiento obtenido a partir de los extractos de las hojas de achiote, era más alta con metanol; y se usaron a las siguientes concentraciones con: metanol al 10.2 %, etanol 9.5 %, acuoso al 7 %, acetato de etilo al 2 % y cloroformo al 1 % de w / w.

En un extracto acuoso de las hojas de achiote se encontró presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, glucósidos cardiotónicos y terpenoides.

Y los constituyentes químicos encontrados en las hojas son: ácido maslínico, ácido gálico, pirogalol, diterpenos, flavonoides y heterósidos.

Las hojas son usadas: como antimicrobiano, para la ictericia y la disentería, para la cicatrización externa, como prevención en la bronquitis, dolor de garganta y la inflamación de los ojos, antifúngico, antileishmanial, analgésicos y antiinflamatorios, como diurético y en la epilepsia.

Las hojas se utilizan en terapia antiemética durante el embarazo, la gonorrea y enfermedades del hígado.

3.- Hetzel Lourido Pérez, Gregorio Martínez Sánchez. “La *Bixa orellana* L. en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar”. Habana, Cuba 2000.

En esta investigación se usaron las hojas de achiote (*Bixa orellana*) con:

Acción cicatrizante: Se empleó un extracto alcohólico de *Bixa orellana* en la piel dañada de conejos Nueva Zelanda y se logró una recuperación de la lesión total a los 3 días de la aplicación del producto.

4.- Lisvany Acosta Díaz, Grisel Victorero Cabrera y Liset de la Caridad Cruz Pérez. “Uso de la medicina tradicional natural en pacientes diabéticos con afecciones podológicas. La Bixa”. Pinar del Río, Cuba 2014.

En la presente investigación se usó un ungüento a base de las semillas de achote en comparación con uno de los medicamentos más utilizados, el clobetazol en 50 pacientes diabético para el tratamiento de anhidrosis e hiperquetosis plantar en una consulta podológica.

Según las características de la Bixa decidieron utilizar en la consulta de podología para el tratamiento de la anhidrosis y la hiperqueratosis plantar en comparación al clobetazol y tomarlo como grupo control, teniendo como objetivo comprobar la importancia que se atribuye a la Bixa en ungüento en el tratamiento de la anhidrosis e hiperqueratosis plantar así como la cicatrización de lesiones incluidas en estas afecciones podológicas. Por lo que también fue importante la corrección ortopédica, uso de calzado adecuado y trabajar el pie de riesgo en pacientes diabético.

Mediante la propuesta presentada de un ungüento a base de las semillas de achote demostraron la importancia que atribuye la Bixa en ungüento en el tratamiento de la anhidrosis e hiperqueratosis plantar así como la cicatrización de lesiones incluidas en estas afecciones podológicas ya que la Bixa tiene importantes propiedades: antifúngica, antipirética, antibacteriana, antiinflamatoria, cicatrizante y antigonorreica, entre otras.

5.- Fabiola Guillermo, Pablo Bonilla y Jorge Arroyo. “Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellaefolia* R. et P. en geles aplicados a *Rattus norvergicus*”. Lima, Perú 2005.

En la presente investigación se evaluó el efecto cicatrizante de la especie vegetal *Peperomia scutellaefolia* R. et P. en forma de geles, en *Rattus norvergicus* y como tratamiento se elaboraron geles de Carbopol 940 al 5%, 10%, 20% y 30% P/P del extracto hidroalcohólico de la planta. Se trabajó con ratas (*Rattus norvergicus*) a los cuales le indujeron una herida de un  $1\text{cm}^2$  y para la evaluación del efecto cicatrizante de los geles se llevó a cabo durante un período de 14 días.

Se determinó la presencia de flavonoides derivados del núcleo de los dihidroflavonoles e isoflavonas en esta planta que son los responsables del efecto cicatrizante.

La especie *Peperomia scutellaefolia* R. et P. presentó actividad terapéutica como cicatrizante externo en la forma farmacéutica de gel. El tratamiento con mayor eficacia fue el gel al 5%, seguido por el gel al 30%, el gel al 20%, el producto farmacéutico comercial Cicatrin y por último el gel al 10%. Los cortes histológicos corroboran los resultados del test de cicatrización, al observarse una mayor reacción cicatrizal en las heridas experimentales tratadas con los geles preparados a base del extracto hidroalcohólico de *Peperomia scutellaefolia* R. et P.

6.- Susy Juro, Valmi Flores, Yanet Mendoza y Carla del Carpio. “Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Junglas neotropica* Diels “nogal” en ratones albinos”. Lima, Perú 2010.

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto cicatrizante de diferentes formas farmacéuticas de aplicación tópica elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels en ratones albinos, se usaron hojas recolectadas en la localidad de Urubamba. Se realizaron cortes de  $1\text{cm}^2$  en el área dorsal escapular de ratones, a quienes en una primera fase del estudio se les aplicó el extracto a diferentes concentraciones (2.5%-40%), durante 21 días.

Tanto el extracto hidroalcohólico al 5% como las formas farmacéuticas de emulsión O/A e hidrogel presentaron muy buena actividad cicatrizante.

## 2.2.- Marco conceptual.

### 2.2.1.- ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

**A.- NOMBRES COMUNES:** Conocido también como: achiote (Perú), achiotec, achiotl, achote, anatto (Estados Unidos), ururcu (Brasil), beninoki, baja (Cuba), eroya, jafara, kasujmba-kelling, khamthai, onoto (Venezuela), orucu, axiote, roukou (Guyana Francesa), ruku, unane, uruku, urucum, orenetto, orlean (Europa).<sup>125</sup>

### B.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

**REINO:** Plantea.

**PHYLUM:** Magnoliophyta.

**CLASE:** Magnoliopsida.

**SUBCLASE:** Rosidae.

**ORDEN:** Violales.

**FAMILIA:** Bixaceae.

**GÉNERO:** Bixa.

**ESPECIE:** *Bixa orellana* L.

**NOMBRE CIENTÍFICO:** *Bixa orellana*.

(ver el Anexo 01).

**C.- PARTE EMPLEADA DEL ACHIOTE:** Las hojas, son simples, alternas y de forma acorazonadas.<sup>126</sup>

Estas son de importancia por sus usos medicinales en infecciones de la piel, como antiséptico vaginal y cicatrizante.<sup>127</sup>

<sup>125</sup> Instituto Nacional de Salud. Achiote. [Internet]. Lima: Instituto Nacional de Salud; [actualizado 2012 Octubre 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe>

<sup>126</sup> Sierra Exportadora. Achiote. [Internet]. Lima: Sierra exportadora; [actualizado 2013 Noviembre 21; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: [http://www.sierraexportadora.gob.pe/perfil\\_comercial/ACHIOTE.pdf](http://www.sierraexportadora.gob.pe/perfil_comercial/ACHIOTE.pdf). p. 4

<sup>127</sup> INDECOPI. Achiote. [Internet]. Lima: INDECOPI; [actualizado 2015 Mayo 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: <https://www.indecopi.gob.pe> .p.1



#### D.- HABITAT.

El achiote crece en zonas tropicales y se adapta a distintos tipos de clima y suelo. Crece en altitudes desde 100 hasta 1.000 msnm, aunque prospera mejor en zonas relativamente bajas (100 a 500 msnm) y planas. Soporta temperaturas desde 24 hasta 35°C, se adapta a diferentes tipos de suelos como arenosos, arcillosos con buen drenaje natural. Requiere suelos de buena fertilidad. Es un cultivo que crece mejor expuesto al sol que a la sombra.<sup>128</sup>

#### E.- ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.

Originaria de América tropical, posiblemente del suroeste de la Amazonia. Se extiende desde México hasta Brasil y Argentina y en el Caribe. Actualmente se distribuye en los países tropicales del nuevo y viejo mundo.<sup>129</sup>

Crece en: Amazonas, Cuzco, Huánuco, Junín, Loreto, Madre de Dios, San Martín, Ucayali.<sup>130</sup>

#### F.- DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.

Achiote es un arbusto muy fructificado o pequeño árbol que crece 10.5 metros de altura.<sup>131</sup>

Aproximadamente 50 semillas crecen dentro de vainas (fruto) en forma de corazón de color rojizo-anaranjado espinosas en los extremos de las ramas.<sup>132</sup>

---

<sup>128</sup> Sierra Exportadora. Achiote. [Internet]. Lima: Sierra exportadora; [actualizado 2013 Noviembre 21; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: [http://www.sierraexportadora.gob.pe/perfil\\_comercial/ACHIOTE.pdf](http://www.sierraexportadora.gob.pe/perfil_comercial/ACHIOTE.pdf). p.10

<sup>129</sup> Mejía K, Rengifo E. Plantas Medicinales de uso popular en la Amazonía peruana: achiote. 2ª ed. Lima: Tarea Asociación Gráfica Educativa; 2000.p. 16

<sup>130</sup> Radilla Solís O. Propiedades y usos medicinales de achiote (*Bixa orellana*). [Internet]. México: Radilla Solís O; [actualizado 2012 Octubre 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: [http://www.tlahui.com/educa/comunidad/tesinas/herbolaria\\_achiote\\_bixa\\_orellana.pdf](http://www.tlahui.com/educa/comunidad/tesinas/herbolaria_achiote_bixa_orellana.pdf) .p. 4

<sup>131</sup> RAINTREE [página de internet]. Estados Unidos: Leslie Taylor; c 1996-2013 [actualizado 2013 Febrero 01; citado 2016 Mayo 05] [cerca 2 pantallas]. Disponible en: [www.rain-tree.com](http://www.rain-tree.com)

<sup>132</sup> *Ibid.*

**FIGURA 10:** Planta de achiote (*Bixa orellana* L.).



**Fuente:** elaboración propia.

### G.- COMPOSICIÓN QUÍMICA.

En las hojas encontramos: Bixaganeno, ishwarano, mono y sesquiterpenos; flavonoides: 7-bisulfato de apigenina, 7- bisulfato de luteolina, 8-bisulfato de hipolaetina, glucósido de apigenina, bisulfato de apigenina, hipoaletina, cosmosiina, otros: flavonas, antocianidinas y sesquiterpenlactonas; carotenoides: bixina, norbixina, orelina,  $\beta$ -caroteno, criptoxantina, metilbixina, zeaxantina, luteína, ácido tomentósico, vitaminas (A, B y C); proteínas, azúcares, celulosa, grasas, calcio, fierro y fósforo; diterpenos: farnesilacetona, geraniol, alcaloides (vestigios); tanino pirogálico: ácido gálico (benzenoide).<sup>133</sup>

En las semillas encontramos: Bixinato de sodio, ácido tomentósico, bixina, betacaroteno, pectina, vitamina A, luteína, metilbixina, norbixina, zeaxantina; también tiene un alto contenido de fósforo y bajo de calcio; un alto contenido de proteínas, el cual incluye niveles adecuados de triptófano y lisina, pero bajos niveles de metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina y treonina.<sup>134</sup>

<sup>133</sup> Instituto Nacional de Salud. Achiote. [Internet]. Lima: Instituto Nacional de Salud; [actualizado 2012 Octubre 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe>. p. 4

<sup>134</sup> *Ibíd.*

## H.- USOS TRADICIONALES.

- Infecciones de la piel: Dejar de 9 a 12 hojas en un litro de agua durante una noche y aplicar después sobre la lesión. <sup>135</sup>
- Antiséptico vaginal y cicatrizante: Poner de 9 a 12 hojas durante una noche en un litro de agua. El líquido se aplica en lavados vaginales. <sup>136</sup>
- Hepatitis: Tomar la decocción de las yemas foliares. <sup>137</sup>
- Vómitos: En infusión, poner tres hojas por cada taza, tomar una taza tres veces al día. <sup>138</sup>

## I.- TOXICIDAD AGUDA ORAL.

La  $DL_{(50)}$  determinada en un extracto liofilizado de hojas de achiote fue de 0,3933326 g/kg de peso del animal a las 72 horas, vía intraperitoneal. Por vía oral resultó 14,5816 g/kg de peso del animal a las 72 horas. <sup>139</sup>

### 2.2.2.- METABOLITOS SECUNDARIOS CON EFECTO CICATRIZANTE.

Varias plantas que tienen propiedades cicatrizantes de heridas, contienen componentes activos con flavonoides. Los taninos también promueven la cicatrización de la herida a través de varios procesos celulares, quelante de los radicales libres y especies reactivas de oxígeno que promueven la contracción de la herida, el aumento de la formación de vasos capilares y fibroblastos. <sup>140</sup>

Así, el proceso de cicatrización de heridas es promovido por varios productos naturales, productos vegetales compuestos de principios activos como triterpenos, alcaloides, flavonoides y biomoléculas también son responsables de la cicatrización de heridas. <sup>141</sup>

---

<sup>135</sup> Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía peruana: Achiote. 2ª ed. Lima: Tarea Asociación Gráfica Educativa; 2000. p. 16

<sup>136</sup> *Ibíd.*

<sup>137</sup> *Ibíd.*

<sup>138</sup> *Ibíd.*

<sup>139</sup> Instituto Nacional de Salud. Achiote. [Internet]. Lima: Instituto Nacional de Salud; [actualizado 2012 Octubre 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe> .p. 12

<sup>140</sup> Kundu S, Brahma S. Plant-based wound healing- A review. World Journal of Pharmacy y Pharmaceutical Sciences. India [en línea] 2016 Abril 25 [fecha de acceso 2 de mayo de 2016]; 5(5): 623-631. Disponible en: [www.wjpps.com](http://www.wjpps.com). p. 624

<sup>141</sup> *Ibíd.*

## A. FLAVONOIDES.

**A.1) DEFINICIÓN:** Son metabolitos secundarios de una gran distribución en el reino vegetal y puede estar presente en todas las partes de una planta. Estos compuestos intervienen en la formación de pigmentos, en la protección frente a la radiación ultravioleta, en la defensa durante la interacción planta- patógeno. Los flavonoides son fenoles de tipo diaril- ( $Ar - C_3 - Ar$ ) unidos, la mayoría, a una cadena de azúcar; están constituidos por un anillo bencénico condensado a una  $\gamma$ -pirona.<sup>142</sup>

**A.2) PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS:** Sólidos cristalinos, son solubles como heterósidos en agua, alcohol e insolubles en disolventes orgánicos apolares; las geninas son solubles en éter, acetato de etilo, metanol, e insoluble en agua. Los heterósidos y las geninas más polares (flavonas hidroxiladas, flavonoles, auronas y chalconas) son aislados por extracción con acetona, agua, alcohol o mezcla de estos solventes.<sup>143</sup>

En las plantas se encuentran en forma de glicósidos, esto les infiere una alta solubilidad en agua y disolventes polares, lo cual se incrementa por la alta polaridad de sus estructuras.<sup>144</sup>

**A.3) EFECTO FARMACOLÓGICO:** A nivel vascular, los flavonoides muestran interesantes actividades sobre la pared de los capilares, particularmente sobre el tejido perivascular o periangio, disminuyendo su permeabilidad y fragilidad, aumentando su resistencia y contribuye a disminuir la exudación, presenta una actividad antiinflamatoria inhibiendo enzimas como la 5-lipooxigenasa y ciclooxigenasa. Los flavonoides son los responsables de la actividad antirradicalaria y antioxidante. Otras propiedades que son atribuidas a los flavonoides son: antimicrobiana, antivírica, espasmolítica, diurética.<sup>145</sup>

---

<sup>142</sup> Abdala S *ét al* Zarzuelo A. Farmacognosia General. Madrid: Síntesis S.A; 2010. p. 209

<sup>143</sup> *Ibíd.*, p. 211

<sup>144</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Félix Varela; 2011.p. 262

<sup>145</sup> Abdala S *ét al* Zarzuelo A. *op. cit.*, p. 214

## B) TANINOS.

**B.1) DEFINICIÓN:** Etimológicamente el término “tanino” se refiere al poder, para curtir la piel de un animal y convertirla en un cuero flexible, estable y resistente a la putrefacción. Son compuestos fenólicos, su masa molecular oscila entre 500 y 3000, presentan características ácidas.<sup>146</sup>

**B.2) PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS:** Son generalmente amorfos, soluble en agua, álcalis diluidos, alcohol, acetona y glicerina. Las diluciones acuosas tienen una estabilidad variable según su estructura, y en general, son moderadamente estables. En un proceso de extracción con agua caliente (cocimiento o decocción) los taninos elágicos se pueden descomponer en ácido gálico, ácido elágico y otros fragmentos.<sup>147</sup>

Precipitan con numerosos reactivos: sales de metales pesados (Fe, Pb, Zn, Cu), con agua de cal, agua de barita, wolframato sódico, molibdato amónico, proteínas (polvo de piel, gelatina, albúmina, etc.) y alcaloides, para lo que son contravenenos eficaces.<sup>148</sup>

**B.3) PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS:** Su actividad antioxidante, basada en la captura de radicales libres, contribuye a sus acciones farmacológicas.<sup>149</sup>

Los taninos se han usado desde la antigüedad por sus propiedades astringentes en uso interno y externo. Esta propiedad está ligada a su capacidad para unirse a las proteínas de la piel y las mucosas, provocando una especie de curtido que hace que las capas superficiales sean menos permeables y protejan a las capas subyacentes, de ahí en uso externo como cicatrizante, hemostático y en el tratamiento de quemaduras.<sup>150</sup>

Tiene acción antiséptica, esta acción se ejerce también en uso externo.<sup>151</sup>

---

<sup>146</sup> Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Félix Varela; 2011. p. 351

<sup>147</sup> Abdala S *et al* Zarzuelo A. Farmacognosia General. Madrid: Síntesis S.A; 2010. p. 229

<sup>148</sup> *Ibíd*, p. 230

<sup>149</sup> *Ibíd*, pp. 231-232

<sup>150</sup> *Ibíd*, p. 232

<sup>151</sup> *Ibíd*, p. 232

### 2.2.3.- HERIDA.

Una herida es una pérdida de la continuidad de la piel o mucosa producida por algún agente físico o químico.<sup>152</sup>

#### 1.- CLASIFICACIÓN SEGÚN SU PROFUNDIDAD.

**a) Superficial:** Sólo está afectada la epidermis (erosión) y se resuelve sin dejar cicatriz. Ejemplo: erosión por fricción, excoriación.<sup>153</sup>

**b) De espesor parcial:** Afecta la epidermis y la dermis superficial respetando los anexos cutáneos. Al involucrar la membrana basal, deja cicatriz. Ejemplo: quemaduras AB-A.<sup>154</sup>

**c) De espesor completo:** Involucra la epidermis, dermis profunda y/o hipodermis. A veces compromete tejidos más profundos como músculo, tendón, cápsula articular y hueso. Repara siempre con cicatriz. Ejemplo: herida quirúrgica, úlceras arteriales.<sup>155</sup>

#### 2.- CICATRIZACIÓN.

Es un proceso de reparación tisular mediante la formación de una variedad de tejido conjuntivo (tejido de granulación) compuesto por dos componentes celulares principales: célula endotelial y fibroblasto. Ambas células migran, proliferan y sintetizan la matriz extracelular.<sup>156</sup>

#### 3.- FASES DE CICATRIZACIÓN.

Por regla general la curación se divide en tres fases:<sup>157</sup>

- ❖ **Fase inflamatoria:** Hemostasia y limpieza de la herida.
- ❖ **Fase de proliferación:** Reconstrucción de los tejidos de granulación.
- ❖ **Fase de remodelación tisular:** Maduración, cicatrización y epitelización.

<sup>152</sup> Enfermería Dermatológica. La cicatrización de heridas. [Internet]. Barcelona: Instituto Enfermería Dermatológica; [actualizado 2008 Enero 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en:

file:///C:/Users/usuario/Downloads/Dialnet-LaCicatrizacionDeLasHeridas-4606613%20(2).pdf. p.8

<sup>153</sup> Bermúdez S *et al* Videla E. Consenso sobre cicatrización de heridas. Dermatología Argentina [en línea] 2008 Julio 14 [fecha de acceso 2016 Mayo 6]; 14(4) 1-41. Disponible en: <http://www.dermatolarg.org.ar>. p. 4

<sup>154</sup> *Ibíd.*

<sup>155</sup> *Ibíd.*

<sup>156</sup> *Ibíd.*

<sup>157</sup> *Ibíd.*, pp. 4-8

#### 4.- TIPOS DE CICATRIZACIÓN.

**A.- CICATRIZACIÓN DE PRIMERA INTENCIÓN:** La cicatrización por primera intención, lo hace en un tiempo mínimo, sin separación de los bordes de la herida, y con mínima formación de cicatriz. Esto se lleva a cabo en tres fases distintas: <sup>158</sup>

- **Fase I “Respuesta inflamatoria” (Día 1 al día 5):** Fluyen hacia la herida líquidos que contienen proteínas plasmáticas, células sanguíneas, fibrina y anticuerpos. Se forma una costra en la superficie para sellar la salida de líquidos y evitar invasión bacteriana. <sup>159</sup>
- **Fase II “Migración/Proliferación” (Día 5 al día 14):** En la primera o segunda semana, los fibroblastos (células germinales de tejido fibroso) migran hacia la herida, con las enzimas de la sangre y de las células del tejido circundante, los fibroblastos forman colágeno y sustancia fundamental (fibrina, fibronectina). <sup>160</sup>
- **Fase III “Maduración/Remodelación” (Día 14 hasta la cicatrización completa):** No hay distinción precisa entre la fase II y la fase III. La cicatrización empieza rápidamente durante la fase II y luego disminuye progresivamente. El contenido de colágeno permanece constante, pero la fuerza de tensión aumenta debido a la formación y entrecruzamiento de las fibras colágenas. <sup>161</sup>

**B.- CICATRIZACIÓN POR SEGUNDA INTENCIÓN:** La cicatrización por segunda intención es causada por infección, trauma excesivo, pérdida o aproximación imprecisa del tejido. En este caso, la herida puede dejarse abierta para permitir que cicatrice desde las capas profundas hacia la superficie exterior. <sup>162</sup>

---

<sup>158</sup> Mas J. Manual de cicatrización de heridas. [Internet]. Barcelona: Fundación del Dr. J. Mas; [actualizado 2008 Octubre 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: <http://www.fundacion-jordi-mas.org> .p. 15

<sup>159</sup> *Ibíd.*

<sup>160</sup> *Ibíd.*

<sup>161</sup> *Ibíd.*

<sup>162</sup> *Ibíd.*, p. 17

**C.- CICATRIZACIÓN POR TERCERA INTENCIÓN:** También llamada cierre primario diferido, la cicatrización por tercera intención ocurre cuando dos superficies de tejido de granulación son aproximadas. <sup>163</sup>

Este es un método seguro de reparación de las heridas contaminadas, así como de las heridas sucias e infectadas y traumatizadas, con pérdida extensa de tejido y riesgo elevado de infección. Cuando se lleva a cabo el cierre, los bordes de la piel y el tejido subyacente deben aproximarse y asegurarse con precisión. <sup>164</sup>

## 5.- FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CICATRIZACIÓN.

Toda herida puede estar afectada por una serie de factores que pueden dificultar su cicatrización: <sup>165</sup>

- **La edad:** Con la edad, el tejido de la piel y el músculo pierde su tono y elasticidad. El metabolismo se hace más lento, y puede alterarse la circulación, prolongando el tiempo de cicatrización. <sup>166</sup>
- **La circulación sanguínea:** Un aporte inadecuado de nutrientes y oxígeno a las células dificultará su actividad reparadora. Además, el humo del tabaco disminuye la presión parcial de oxígeno en la herida disminuyendo así la síntesis de colágeno, la angiogénesis y la actividad fagocítica. <sup>167</sup>
- **La nutrición:** Para una mejor cicatrización se debe aumentar el consumo de alimentos ricos en proteínas, vitaminas A y C, y sales minerales como el zinc, calcio, cobre y el hierro esencial para la síntesis de DNA y la división celular. <sup>168</sup>

---

<sup>163</sup> Mas J. Manual de cicatrización de heridas. [Internet]. Barcelona: Fundación del Dr. J. Mas; [actualizado 2008 Octubre 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: <http://www.fundacion-jordi-mas.org> .p. 18

<sup>164</sup> *Ibíd.*, p. 18

<sup>165</sup> Enfermería Dermatológica. La cicatrización de heridas. [Internet]. Barcelona: Instituto Enfermería Dermatológica; [actualizado 2008 Enero 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: [file:///C:/Users/usuario/Downloads/Dialnet-LaCicatrizacionDeLasHeridas-4606613%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/usuario/Downloads/Dialnet-LaCicatrizacionDeLasHeridas-4606613%20(2).pdf) .p.14

<sup>166</sup> Mas J. op. cit., p. 8

<sup>167</sup> Enfermería Dermatológica. op. cit., p. 14

<sup>168</sup> *Ibíd.*



- **Hormonas:** El estrógeno afecta la curación de heridas mediante la regulación de una variedad de genes asociados con la regeneración, la producción de matriz, la inhibición de la proteasa, la función epidérmica, y los genes asociados principalmente con la inflamación, mejorando la cicatrización. <sup>169</sup>
- **Peso:** En las personas obesas hay disminución en la cicatrización, que son resultado de una disminución de la vascularización del tejido adiposo y la tensión de la herida aumenta la presión del tejido, la reducción de microperfusión y la disponibilidad de oxígeno a la herida. <sup>170</sup>

## 6.- COMPLICACIONES DE LA CICATRIZACIÓN.

- **Infección:** Una infección proviene de la introducción de microorganismos virulentos en una herida susceptible. Si no se trata, puede dar lugar a la muerte del tejido.<sup>171</sup>
- **La separación de la herida:** Se presenta con mayor frecuencia en pacientes de edades avanzadas o debilitadas, pero puede ocurrir a cualquier edad. La separación de una herida puede ser parcial o total de las capas de tejido después de haberse cerrado.<sup>172</sup>

### 2.2.4.- GEL.

Es una forma farmacéutica de consistencia semirrígida, es un coloide transparente, un sistema semisólido destinado a ser aplicado sobre las membranas mucosas, y se utilizan para ejercer acción tópica. <sup>173</sup>

En la práctica farmacéutica de hoy en día, las formulaciones semisólidas son vehículos preferidos para la terapia dermatológica, ya que permanecen *in situ* y entregan su carga útil de fármaco durante períodos prolongados. <sup>174</sup>

<sup>169</sup> Guio S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. J Dent Rest [en línea] 2009 Octubre 30 [fecha de acceso 12 de Mayo 2016]; 89(3):219-229. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> .p. 222

<sup>170</sup> *Ibíd*, pp. 224-225

<sup>171</sup> Mas J. Manual de cicatrización de heridas. [Internet]. Barcelona: Fundación del Dr. J. Mas; [actualizado 2008 Octubre 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: <http://www.fundacion-jordi-mas.org> .p.19

<sup>172</sup> *Ibíd*.

<sup>173</sup> Gennaro A. Remington Farmacia [libro electrónico]. Vol. I.20ª ed. Argentina: Médica Panamericana; 2003 [citado 2016 mayo 4]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books> .p. 867

<sup>174</sup> Gibson M. Pharmaceutical Preformulation and Formulation. Vol. 199. 2ª ed. Estados Unidos: Informa Healthcare USA; 2009. p. 497-498

## 1.- PROPIEDADES DE LOS GELES.

- a) Debe ser inerte, compatible con otros aditivos y no tóxico.
- b) Debe ser estable en las condiciones de almacenamiento.
- c) Debe estar libre de contaminación microbiana.
- d) Debe mantener todas las propiedades reológicas del gel.
- e) Económico.
- f) Debe ser lavable con agua y libre de la naturaleza de la tinción.
- g) No debe afectar a la naturaleza biológica de la droga.
- h) Debe ser práctico en el manejo y su aplicación.
- i) Debe poseer propiedades tixotrópicas y emoliente, que no manche.<sup>175</sup>

## 2.- TIPOS.

**A. Geles hidrófobos:** Las bases de los geles hidrófobos (oleogeles) por lo general consisten en parafina líquida con polietileno o aceites grasos gelificados con sílice coloidal o jabones de aluminio o zinc.<sup>176</sup>

**B.- Geles hidrófilos:** Las bases de los geles hidrófilos (hidrogeles) por lo general consisten en agua, glicerol o propilenglicol, agentes gelificantes como tragacanto, almidón, derivados de la celulosa.<sup>177</sup>

### B.1.- MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE LOS HIDROGELES.

Ya sea la escala de preparación grande o pequeña, las formas de dosificación semisólidas son producidas por estos métodos en generales.<sup>178</sup>

---

<sup>175</sup> Mahajan Suvarnalata S, Chaudhari R. Transdermal gel: As a novel drug delivery system. IJPLS [en línea] 2016 Enero 15 [fecha de acceso 4 de mayo 2016]; 7(1): 4864-4871. Disponible en: [www.ijprbs.com](http://www.ijprbs.com) .pp. 4867-4868

<sup>176</sup> Gennaro A. Remington Farmacia [libro electrónico]. Vol. I.20ª ed. Argentina: Médica Panamericana; 2003 [citado 2016 mayo 4]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books>. p. 867

<sup>177</sup> *Ibíd.*

<sup>178</sup> Prabhjotkaur, Loveleenpreetkaur, Khan MU. Topical formulations and hydro-gel: An overview. IJAPBC, [en línea] 2013 Marzo 01 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(1): 201-206. Disponible en: [www.ijapbc.com](http://www.ijapbc.com). p. 204

- **Método de fusión:** Se usa para algunos gelificantes que necesitan un procedimiento de fusión, usando el calor, que se dispersa más fácilmente en agua caliente que en agua fría.<sup>179</sup>
- **Método en frío:** La incorporación en frío se utiliza con fármacos lábiles al calor, cuando un fármaco se va a agregar a la base ya preparado semisólido o cuando el vehículo en sí es tan lábil al calor.<sup>180</sup>
- **Método de dispersión:** Dispersar los polímeros en agua destilada mediante agitación continua. Disolver el fármaco en el disolvente e incorporar en el gel por agitación para potenciar la penetración.<sup>181</sup>

### 3.- VENTAJAS DE LA ADMINISTRACIÓN TÓPICA.

La administración tópica de drogas con el fin de lograr una óptima absorción cutánea y la administración de fármacos percutáneo tienen varias ventajas.

- Se pueden evitar las dificultades de absorción de drogas gastrointestinales causados por el pH gastrointestinal y la actividad enzimática y la interacción de fármacos con los alimentos y bebidas.<sup>182</sup>
- Se pueden sustituir a la administración oral de medicación cuando esa ruta no es adecuada.<sup>183</sup>

Los productos farmacéuticos semisólidos pueden adherirse a la superficie de aplicación durante periodos suficientemente largos antes de ser lavados. Esta propiedad ayuda a prolongar la administración del fármaco en el lugar de la aplicación. Una forma de dosificación semisólida es ventajosa en términos de su fácil aplicación, formulación rápida y capacidad para suministrar tópicamente una amplia variedad de moléculas de fármaco.<sup>184</sup>

<sup>179</sup> Vashisht S, Sharma S, Benerjee A. Hydrogels used as topical drug delivery system: An overview. INT J RECENT ADV PHARM RES, [en línea] 2016 Enero 01 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 6(1): 31-41. Disponible en: [www.IJRAPRONLINE.com](http://www.IJRAPRONLINE.com) .p. 38

<sup>180</sup> *Ibíd.*

<sup>181</sup> *Ibíd.*

<sup>182</sup> Prabhjotkaur, Loveleenpreetkaur, Khan MU. Topical formulations and hydro-gel: An overview. IJAPBC, [en línea] 2013 Marzo 01 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(1): 201-206. Disponible en: [www.ijapbc.com](http://www.ijapbc.com). p. 203

<sup>183</sup> *Ibíd.*

<sup>184</sup> Gupta J, Sanjay G. Recent advances in semisolid dosage forms for dermatological aplicación. Pharmaceutical Technology, [en línea] 2002 Marzo 01 [fecha de acceso 20 de Junio 2016]; 144-162. Disponible en: [www.pharmtech.com](http://www.pharmtech.com). p. 144

#### 4.- MATERIAS PRIMAS USADAS EN EL GEL.

##### A.- PRINCIPIO ACTIVO.

Pueden usarse en los geles para su administración en forma tópica o en el interior de cavidades corporales.<sup>185</sup>

La permeación de un fármaco en la piel no necesariamente se correlaciona con la concentración aplicada, si no con la solubilidad del principio activo en la formulación (vehículo).<sup>186</sup>

##### B.- CARBOPOL.

Es un carbómero, polvo blanco, higroscópico, suave, ácido; es soluble en agua, etanol al 95%, y glicerina. Los carbómeros se usan en las siguientes formulaciones que son: cremas, geles, lociones y ungüentos; para uso oftálmico, tópico, rectal y vaginal. Se usa en un gel como agente gelificante y para formulaciones tópicas se usa a una concentración de 0.5-2%<sup>187</sup>

Los carbómeros tienen un excelente perfil de seguridad, son considerados no tóxicos y no irritantes, y se han utilizado ampliamente por la industria farmacéutica e industrias cosméticas. Además, no hay evidencia de hipersensibilidad o alergias en los seres humanos como resultado de la aplicación tópica.<sup>188</sup>

---

<sup>185</sup> Gennaro A. Remington Farmacia [libro electrónico]. Vol. I.20ª ed. Argentina: Médica Panamericana; 2003 [citado 2016 mayo 4]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books>. p. 867

<sup>186</sup> McAuley WJ, Kravitz L. Pharmacokinetics of topical products. Dermatological Nursing, [en línea] 2012 Enero 01 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 11(2): 40-44. Disponible en: [www.bdng.org.uk](http://www.bdng.org.uk).p.42

<sup>187</sup> Rowe R, Sheskey PJ, Quinn M E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6ª ed. Estados Unidos: Pharmaceutical Pres; 2009. p. 110

<sup>188</sup> Gibson M. Pharmaceutical Preformulation and Formulation. Vol. 199. 2ª ed. Estados Unidos: Informa Healthcare USA; 2009. p. 503

### **C.- TRIETANOLAMINA.**

Líquido límpido, viscoso, incoloro o débilmente amarillento, muy higroscópico. Miscible con agua y con etanol, soluble en cloruro de metileno. Se usa en un gel como un agente alcalinizante de pH y como emulgente puede influenciar en ocasiones en el tacto y en la transparencia final del gel.<sup>189</sup>

### **D.- GLICERINA.**

Líquido viscoso, untuoso al tacto, incoloro o casi incoloro, muy higroscópico. Miscible con agua y etanol al 96%, poco soluble en acetona, prácticamente insoluble en aceites grasos y en aceites esenciales.<sup>190</sup>

Usado en formulaciones tópicas y cosméticos, la glicerina es usada como humectante y emoliente; como co-disolvente en cremas y emulsiones. Se usa en un gel como humectante lo que evita su rápida desecación una vez aplicados sobre la piel, mejorando asimismo la extensibilidad sobre la piel; se utiliza a una concentración de 5-15%.<sup>191</sup>

### **E.- PARABENOS.**

#### **E.1.- METIL PARABENO.**

Metil parabeno se presenta en forma de cristales incoloros o polvo cristalino blanco, es inodoro o casi inodora y tiene un ligero sabor ardiente; usado como conservante antimicrobiano en formulaciones farmacéutica, cosméticos y productos alimentarios. Presenta actividad antimicrobiana frente a mohos, levaduras, bacterias Gram positivas y Gram negativas a un pH entre 3-8, en combinación con propil parabeno aumentan su actividad antimicrobiana.<sup>192</sup>

---

<sup>189</sup> Rowe R, Sheskey PJ, Quinn M E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6ª ed. Estados Unidos: Pharmaceutical Pres; 2009. p. 754

<sup>190</sup> *Ibíd.*, p. 283

<sup>191</sup> *Ibíd.*

<sup>192</sup> *Ibíd.*, pp. 441-442

Usado en formulaciones tópicas a una concentración de 0.02 - 0.3%.<sup>193</sup>

## **E.2.- PROPIL PARABENO.**

Es un polvo blanco, cristalino, inodoro e insípido; usado como conservante antimicrobiano en cosméticos, productos alimentarios, formulaciones farmacéuticas.<sup>194</sup>

Presenta actividad antimicrobiana frente a mohos, levaduras, bacterias Gram positivas y Gram negativas; a un pH de 4-8.<sup>195</sup>

Usado en formulaciones tópicas a una concentración de 0.01-0.6%.<sup>196</sup>

## **F.- EDTA.**

Ácido etilendiaminotetraacético y edetatos se utilizan principalmente como sinergistas antioxidantes, secuestran cantidades traza de iones metálicos, especialmente de cobre, hierro y manganeso, que de otro modo podrían catalizar reacciones de autooxidación. Ácido etilendiaminotetraacético y edetatos, se usan a la concentración usual, empleado en un intervalo de 0.005 - 0.1% w / v.<sup>197</sup>

## **G.- AGUA DESTILADA.**

El agua se utiliza ampliamente como materia prima, ingrediente y disolvente en el procesamiento, formulación y fabricación de productos farmacéuticos, ingredientes farmacéuticos activos (API), productos intermedios y reactivos analíticos.<sup>198</sup>

---

<sup>193</sup> Rowe R, Sheskey PJ, Quinn M E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6ª ed. Estados Unidos: Pharmaceutical Pres; 2009. p. 442

<sup>194</sup> *Ibíd.*, p. 596

<sup>195</sup> *Ibíd.*

<sup>196</sup> *Ibíd.*

<sup>197</sup> *Ibíd.*, p. 247

<sup>198</sup> *Ibíd.*, p. 766

## CAPÍTULO III

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

#### 3.1.- Población y muestra.

##### 3.1.- Población.

La población estuvo constituida por ratas "*Rattus wistar*" del Bioterio de la Universidad Nacional de San Agustín. Se utilizaron los siguientes criterios de selección:

##### A) Criterios de inclusión.

Los animales utilizados para el desarrollo del presente trabajo fueron ratas "*Rattus wistar*" machos de la misma camada, de 3 meses de edad aparentemente sanas y con un peso promedio de 250-300 gramos; mantenidos con un régimen de libre acceso al alimento y al agua, con un ciclo de luz y oscuridad de 12 horas respectivamente. <sup>199</sup>

##### B) Criterios de exclusión.

Ratas Wistar hembras, con un peso inferior a 250 gramos.

---

<sup>199</sup> Kumar V, Nagarajan K, Abdullah Khan A. Animal Models for the evaluation of wound healing activity. *Internacional Bulletin of Drug* [en línea] 2016 Abril 22 [fecha de acceso 2 de mayo de 2016]; 3(5):93-107. Disponible en: <http://www.researchgate.net/publication/274010528>. p. 99

### 3.2.- Nivel de confianza y grado de significancia usada para la prueba estadística T-student.

- Nivel de confianza de: 0.95
- Grado de significancia: 0.05

### 3.3.- Muestra.

Muestra vegetal: 35 g de hojas de achiote.

Muestra de animales de experimentación: 10 ratas "*Rattus wistar*".

#### 3.3.1.- Tamaño de la muestra representativa de los animales de experimentación.

Tipo de muestra: Muestra no probabilística, se realizó el muestreo al azar a propósito del investigador.

$$r \geq 2[Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}]^2 \left(\frac{\sigma}{\delta}\right)^2$$

$$r \geq 2[1.96 + 0.84]^2 \left(\frac{4.76}{6}\right)^2$$

$$r \geq 9.87 \text{ ratas } (Rattus wistar).^{200}$$

Numero de réplicas necesario para el grupo en tratamiento: r

La varianza:  $(\sigma)^2$ : 4.76

El tamaño de la diferencia entre las dos medias:( $\delta$ ): 6

Valor Z para un nivel  $\alpha$  :  $\alpha/2$  :  $z_{\alpha/2}$  : 1.96

Valor Z para un nivel  $\beta$  :  $z_{\beta}$  : 0.84

Usando como datos de ( $\delta$ ) y ( $\sigma$ ) del antecedente: "Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellaefolia* R. et P. en geles aplicados a *Ratus norvergicus*".

---

<sup>200</sup> Kuehl RO. Diseño de experimentos: Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación. 2ª ed. Estados Unidos: Thomson Learning; 2001. p. 19



### 3.4.- Análisis e interpretación de resultados.

#### 3.4.1.- ENSAYOS FISICOQUÍMICOS DE CONTROL DE CALIDAD A LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

Según el método de determinación de cenizas totales por incineración se registró el valor que se describe en la siguiente tabla.

**TABLA 01**

#### Determinación de cenizas totales de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.).

VALOR	LÍMITES PERMISIBLES GENERALES
4%	<5%

**Fuente:** elaboración propia.

En la tabla 01 se observa el valor obtenido, en la determinación de cenizas totales que fue de 4%; valor que se encuentra dentro de los límites permisibles (libro de Farmacognosia y Productos Naturales capítulo 6: Métodos de análisis de drogas, ver en Anexo 02 la figura 11); el cual indica que las hojas de achiote contiene sales minerales en su composición, las cuales son muy importantes; ya que la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica.

**TABLA 02**

#### Determinación del porcentaje de humedad de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.).

VALOR	LÍMITES PERMISIBLES GENERALES
11%	10-12%

**Fuente:** elaboración propia.

En la tabla 02 se aprecia el valor obtenido en la determinación de la humedad que fue de 11%; valor que se encuentra dentro de lo establecido por la Farmacopea Europea, lo que indica que las condiciones de conservación y almacenamiento de la muestra (hojas de achiote) fueron adecuadas, debido a que el contenido de humedad permite conocer la estabilidad de la materia prima y la seguridad que los principios activos se conservan, si existe menor cantidad de agua se evita la proliferación bacteriana y micótica; (ver en Anexo 02 la figura 12).

### 3.4.2.- DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD AL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

**TABLA 03**

Descripción organoléptica del extracto acuoso de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.).

PARÁMETROS	EXTRACTO
Aspecto	Líquido viscoso
Olor	Característico de la planta
Color	Amarillo-pardo
Sabor	Amargo-picante

**Fuente:** elaboración propia.

En la tabla 03 se evidencia las características organolépticas del extracto acuoso que son propios de cada planta y para ello se emplean los órganos de los sentidos para poder indicar las características de los extractos, (ver en Anexo 03 la figura 13).

**TABLA 04**

Determinación de los parámetros físicos del extracto acuoso de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.).

PARÁMETRO	VALOR
Densidad relativa	1.01 g/ml
pH	4.67
Viscosidad relativa	5.9

**Fuente:** elaboración propia.

En esta tabla 04 se observa los resultados de los parámetros físicos realizados de acuerdo de la Farmacopea Argentina. 6ª ed. Vol I, en donde se describe la densidad y viscosidad de los extractos con respecto al agua a 20° C, (Anexo 03 las figuras 14, 15 y 16). Siendo el valor de la densidad de 1.01 g/ml y viscosidad relativa de 5.9 aceptable.

El valor de pH fue de 4.67, es un valor aceptable para preparar formulaciones tópicas ya que este no debe ser extremadamente alcalino ni ácido, según el artículo de Farmacia y Ciencias Farmacéuticas “Hidrogel: A novel technique for preparation of topical gel”.

### 3.4.3.- ENSAYO FITOQUÍMICO CUALITATIVO AL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

Los ensayos fitoquímicos constituyen una de las etapas que nos permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta. Permite apreciar a los metabolitos secundarios que posee la misma.

**TABLA 05**

**Identificación cualitativa de metabolitos secundarios en el extracto acuoso de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.).**

<b>METABOLITOS</b>	<b>ENSAYO</b>	<b>INDICADOR</b>	<b>EXTRACTO</b>
<b>Flavonoides</b>	Medio básico con hidróxido de sodio 10%	Coloración amarillo, anaranjado o rojizo a café	+
<b>Taninos</b>	Reactivo gelatina-sal 1%	Precipitado blanquecino.	+
<b>Fenoles</b>	Reactivo cloruro férrico 1%.	Coloración verde o azul negruzco.	+
<b>Saponinas</b>	Formación de espuma	Formación abundante de espuma.	-

**Fuente:** elaboración propia.

Leyenda: (+) presencia, (-) ausencia.

En la tabla 05 se evidencia que se identificó en el extracto acuoso de las hojas de achiote: flavonoides y taninos además de fenoles (ver el Anexo 04, la figura 17); metabolitos secundarios importantes para esta investigación, ya que cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y hemostática, al detener el sangrado. Y que se describe también de la identificación de estos metabolitos por: Priyanka Gupta y Rajiv Gandhi en su estudio titulado “*Bixa orellana*: una revisión de su fitoquímica, usos tradicionales y farmacológicos”.

### 3.4.4.- FORMULACIÓN DEL GEL HIDRÓFILO ELABORADO A BASE DE HOJAS DE ACHIOTE.

TABLA 06

Formulación del gel hidrófilo de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18%.

MATERIAS PRIMAS	CANTIDAD
Extracto acuoso de hojas de achiote 18%	100 ml
Carbopol 940	2 g
Trietanolamina	1.65 ml
Glicerina	2 ml
Metil parabeno	0.18 g
Propil parabeno	0.02 g
EDTA	0.02 g

**Fuente:** elaboración propia. (tomando como fórmula base "Gel de carbopol", de Gennaro A. Remington Farmacia Vol I. 20ª ed), y reformulada con la adición de las siguientes materias primas: el extracto acuoso (p.a), la glicerina y el EDTA.

En esta tabla 06 se aprecia la fórmula usada en la elaboración del gel, según la fórmula base "Gel de carbopol", tomada del libro electrónico Remington Farmacia Vol I. 20ª ed. de Gennaro A y reformulada con la adición de las siguientes materias primas: los principios activos que contiene el extracto acuoso de las hojas de achiote, la glicerina y el EDTA. El carbopol actuó como gelificante, al mezclarse con el extracto acuoso de las hojas de achiote, este se hincho en este medio produciendo un entrelazamiento de las moléculas. Luego se añadió la glicerina como co- disolvente de las partículas en el preparado, a la vez, actuó como humectante.

Luego se agregó la trietanolamina que actuó como neutralizante, los parabenos como conservantes antimicrobianos y el EDTA como antioxidante para evitar la oxidación de los principios activos. Se realizaron con las concentraciones de las materias primas de acuerdo al Handbook of Pharmaceutical Excipientes. 6ª ed, (ver el Anexo 05, la figura 18).

### 3.4.5.- CONTROL DE CALIDAD AL PRODUCTO FARMACÉUTICO TERMINADO.

El control de calidad del gel de Carbopol a base del extracto acuoso de las hojas de achiote, se lleva a cabo para determinar si posee los atributos de calidad según parámetros previamente establecidos. Estas características, buscan poder conseguir en último término que el producto cumpla el objetivo para el cual fue diseñado de manera segura.

#### A.- LAS PROPIEDADES FÍSICAS DEL GEL ELABORADO A BASE DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.

**TABLA 07**

**Determinación de las propiedades físicas del gel elaborado a base de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18%.**

<b>PARÁMETROS</b>	<b>GEL</b>
<b>Aspecto</b>	Homogéneo
<b>Color</b>	Amarillo - pardo
<b>Olor</b>	Herbal
<b>Revisión de grumos</b>	Ausencia
<b>Sensación al tacto</b>	Suave
<b>Peso</b>	40 g

**Fuente:** elaboración propia.

En tabla 7 se observa los resultados de la determinación de los parámetros físicos del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18 %, que presentó un aspecto homogéneo sin presencia de grumos, color amarillo pardo intenso, y de un olor aromático intenso debido a los componentes aromáticos propios de los extractos. En piel presenta suavidad al tacto y su contenido tiene un peso de 40 g.

Según los parámetros que indican en el artículo de Farmacia y Ciencias Farmacéuticas "Hidrogel: A novel technique for preparation of topical gel" y la Farmacopea Internacional 5ª ed. para formas farmacéuticas semisólidas tópicas, (ver en 06 la figura 19).

**B.- EL pH DEL GEL ELABORADO A BASE DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.**

**TABLA 08**

**Determinación del pH al gel elaborado a base de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18%.**

PARÁMETRO	VALOR	LÍMITES PERMISIBLES
pH	7.16	5-8

*Fuente:* elaboración propia.

En la tabla 08 se evidencia que el valor de pH se encuentra en los límites para una disolución de un gel en agua destilada; según el libro Pharmaceutical Manufacturing Handbook (Anexo 06, la figura 20).

**C.- DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN EL GEL ELABORADO A BASE DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.**

**TABLA 09**

**Identificación cualitativa de metabolitos secundarios en el gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18%.**

METABOLITOS	ENSAYO	INDICADOR	EXTRACTO
<b>Flavonoides</b>	Medio básico con hidróxido de sodio 10%.	Coloración amarillo, anaranjado o rojizo a café	+
<b>Taninos</b>	Reactivo cloruro férrico 1%.	Coloración azul o verde-negruzco.	+
<b>Fenoles</b>	Reactivo cloruro férrico 1%.	Coloración verde, violeta o azul	+

*Fuente:* elaboración propia.

Leyenda: (+) presencia, (-) ausencia.

En la tabla 09 se observa que se verificó la presencia de metabolitos secundarios en el gel de hojas de achiote al 18%, que se evidenció en el extracto acuoso de las hojas de achiote, estos metabolitos fueron los flavonoides y taninos condensados además de fenoles (ver Anexo 06, la figura 21); metabolitos secundarios importantes para esta investigación, ya que cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las

heridas y el aumento de la formación de vasos capilares y fibroblastos, que describe los metabolitos secundarios con efecto cicatrizante en el artículo Plant-based wound healing- A review de Somnath Kundu y Swarnali Brahma.

#### **D.- ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO AL GEL ELABORADO A BASE DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.**

El análisis microbiológico al gel elaborado a base de hojas de achiote, es importante, ya que permite valorar la carga microbiana, señalando los posibles puntos de riesgo de contaminación o multiplicación microbiana, por lo que es necesario que el producto cumpla con el objetivo para el que fue diseñado siendo un producto higiénico, sin microorganismos y que garantiza la calidad del mismo.

**TABLA 10**

**Determinación del número de microorganismos (mesófilos aerobios, mohos y levaduras) en el gel elaborado a base de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18%.**

<b>ENSAYOS DE CONTEO</b>	<b>GEL DE HOJAS DE ACHIOTE 18%</b>	<b>VALOR ACEPTABLE SEGÚN LA FARMACOPEA EUROPEA</b>
<b>Mesófilos aerobios</b>	<1 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g <sup>201</sup>
<b>Mohos-levaduras</b>	Ausencia	10 <sup>1</sup> UFC/g <sup>202</sup>

**Fuente:** elaboración propia, basada en los parámetros de la Farmacopea Europea. 7<sup>a</sup> ed.

En la tabla 10 se observa los valores obtenidos en la determinación del número de microorganismos mesófilos aerobios, mohos y levaduras, donde se describe que los valores se encuentra dentro de los límites establecidos por Farmacopea Europea para las forma farmacéuticas tópica no estériles, (Anexo 06, las figuras 22, 23), lo que indica que las condiciones higiénicas con las que se elaboró el producto farmacéutico, son las adecuadas ya que se llevó a cabo de una manera aséptica, y se puede permitir su uso.

<sup>201</sup> Farmacopea Europea. 7<sup>a</sup> ed. Europa: Farmacopea Europea; 2011. p. 507

<sup>202</sup> *Ibíd.*

TABLA 11

Determinación de patógenos objetables (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*) en el gel elaborado a base de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18%.

ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN	GEL DE HOJAS DE ACHIOTE 18%	VALOR ACEPTABLE SEGÚN LA FARMACOPEA EUROPEA
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g <sup>203</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g <sup>204</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g <sup>205</sup>

**Fuente:** elaboración propia, basada en los parámetros de la Farmacopea Europea. 7ª ed.

En la tabla 11 se aprecia los resultados obtenidos tras la realización de los ensayos para la determinación de la presencia de patógenos objetables. De acuerdo a las pruebas microbiológicas aplicadas al gel, dando como resultado ausencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, lo que es aceptable de acuerdo a los límites que da la Farmacopea Europea para las forma farmacéuticas tópica no estériles, (Anexo 06, las figuras 24, 25 y 26); lo que garantiza que el gel es un producto antiséptico de calidad.

<sup>203</sup> Farmacopea Europea. 7ª ed. Europa: Farmacopea Europea; 2011. p. 507

<sup>204</sup> *Ibíd.*

<sup>205</sup> *Ibíd.*



TABLA 12

Comparación del efecto cicatrizante del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% entre dos grupos de estudio de ratas (*Rattus wistar*).

ESTADISTICA	Con tratamiento Grupo experimental	Sin tratamiento Grupo control
Media	8.20	12.20
Desv. típ.	1,10	1,79
Mínimo	7,00	11,00
Máximo	9,00	15,00
N	5	5

**Fuente:** elaboración propia.

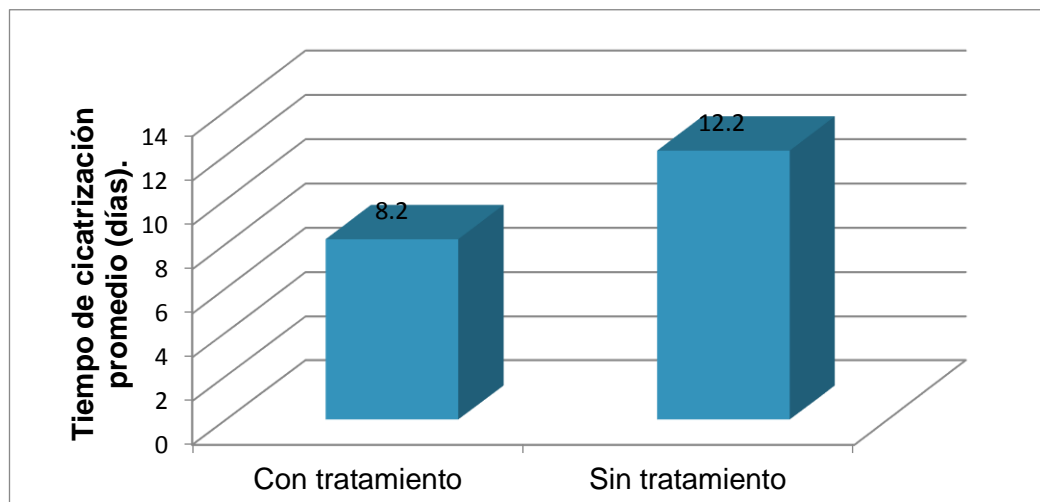
t=4,26. p<0.05

La tabla 12 según la prueba de T- student (t=4.26) para muestras independientes, se observa que el tiempo de cicatrización en el grupo con y sin gel de achiote, presentó diferencias estadísticas significativas (p<0.05).

Asimismo, se muestra que el tiempo de cicatrización en las ratas Wistar expuestas al gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% fue de 8.20 días frente a 12.20 días en el grupo sin tratamiento.

GRÁFICO 01

Comparación del efecto cicatrizante del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% según el tiempo de cicatrización entre el grupo con tratamiento y sin tratamiento de ratas (*Rattus wistar*).



**Fuente:** elaboración propia.

En el gráfico 01 se observa que el tiempo de cicatrización promedio con el uso del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% se produjo en 8.2 días para el grupo con tratamiento de este gel comparado con los 12.2 días de cicatrización que le tomó al grupo sin tratamiento.

**TABLA 13**

**Comparación del tiempo de cicatrización según las longitudes de cicatrización registradas en el grupo con el tratamiento del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% con respecto al grupo sin tratamiento.**

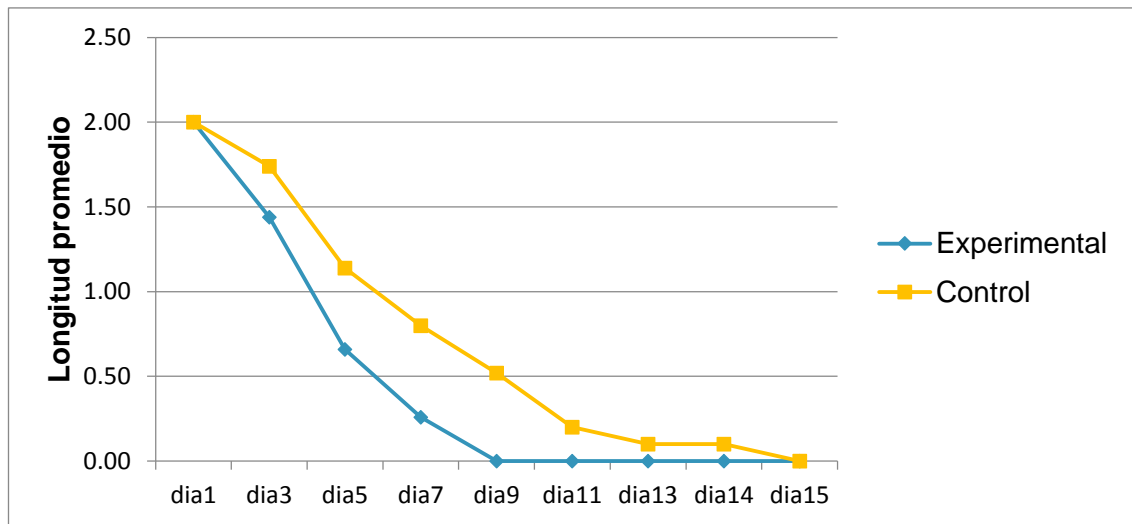
	GRUPOS			
	Grupo experimental Con tratamiento		Grupo control Sin tratamiento	
	Media	Desv. típ.	Media	Desv. típ.
dia1	2,00	0,00	2,00	0,00
dia3	1,44	0,18	1,74	0,24
dia5	0,66	0,32	1,14	0,42
dia7	0,26	0,29	0,80	0,57
dia9	0,00	0,00	0,52	0,04
dia11	0,00	0,00	0,20	0,27
dia13	0,00	0,00	0,10	0,22
dia14	0,00	0,00	0,10	0,22
dia15	0,00	0,00	0,00	0,00

**Fuente:** elaboración propia.

La tabla 13 nos muestra los valores máximos de la estadística T-student aplicada, de acuerdo a la diferencia en días de cicatrización en el transcurso del estudio, registrándose el tiempo de cicatrización en el grupo con tratamiento del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% un valor máximo de 9 días, mientras que en el grupo sin tratamiento, el valor máximo fue de 15 días.

## GRÁFICO 02

Comparación de las longitudes de cicatrización de las heridas inducidas en ratas (*Rattus wistar*) según al tiempo de cicatrización con el tratamiento del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% en el grupo experimental con respecto al grupo control (sin tratamiento).



**Fuente:** elaboración propia.

El gráfico 02 nos muestra que la reducción total de la longitud de las heridas inducidas en ratas (*Rattus wistar*) hasta conseguir la cicatrización del grupo experimental, que recibió el tratamiento con el gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% lleva una tendencia de cicatrización más rápida (en menos de 9 días) demostrando una gran ventaja de su efecto cicatrizante, comparado con la prolongación de la cicatrización del grupo control (sin tratamiento); ver en (Anexo 07, la figura 33).

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

**PRIMERA:** Con el uso del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% aplicadas tópicamente en las heridas experimentalmente inducidas en las ratas Wistar, se concluye que este gel tiene efecto cicatrizante con un tiempo de 8 días, menos que el grupo control de 12 días; aceptando la hipótesis planteada en la investigación.

**SEGUNDA:** El resultado de la evaluación del control de calidad físico del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18%, dio un gel homogéneo, suave al tacto, que no presenta grumos, de color amarillo pardo, con olor característico a la planta, y un valor de pH de 7.16 del gel, encontrándose dentro de los límites permitidos.

En el control de calidad microbiológico los resultados obtenidos están dentro de los límites permisibles según la Farmacopea Europea, estos resultados al encontrarse dentro de los parámetros permitidos del control de calidad físico y microbiológico para esta formulación farmacéutica tópica, indica que el gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% está apto para su uso por vía tópica en heridas.

**TERCERA:** Se comparó el tiempo de la cicatrización de las heridas experimentalmente inducidas en ratas Wistar entre el grupo control y el experimental y se notó una diferencia significativa de acuerdo a la estadística T- student ya que el grupo experimental tratado con el gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18%, obtuvo una cicatrización a los 8 días, comparado con los 12 días que le tomó al grupo control (sin tratamiento) la cicatrización de sus heridas.

### RECOMENDACIONES.

**PRIMERA:** Continuar los estudios del efecto cicatrizante del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% frente a otras formas farmacéuticas del mercado.

**SEGUNDA:** Seguir los estudios con el fin de determinar el tiempo de cicatrización con el uso del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18% en otros grupos de animales de estudios.

**TERCERA:** Seguir los estudios del efecto cicatrizante de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) usando otros tipos de modelos de inducción de heridas para la evaluación de la actividad cicatrizante.

**CUARTA:** Continuar los estudios del efecto cicatrizante del gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) usando otros extractos (orgánicos).

**QUINTA:** Realizar estudios de estabilidad al gel de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) al 18 % para verificar la calidad, seguridad y eficacia de este producto farmacéutico.

**SEXTA:** Purificar el extracto acuoso de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) con el fin de obtener la formulación farmacéutica en concentración de (mg) del principio activo en relación a los excipientes.

### BIBLIOGRAFÍA.

1. Abdala S *ét al*/ Zarzuelo A. Farmacognosia General. Madrid: Síntesis S.A; 2010
2. Abrahmsén – Alami S *ét al*/ Zhai H. Pharmaceutical Manufacturing Handbook. Estados Unidos: John Wiley & Sons, INC, Publication; 2008
3. Benson H, Watkinson AL. Transdermal and Topical Drug Delivery: principles and practice. Estados Unidos: John Wiley & Sons, INC, Publication; 2012
4. Canales M, Hernández T, Meraz S, Peñalosa I. Fisicoquímica [libro electrónico]. Vol. I. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 1999 [citado 2016 Mayo 16]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books> (acceso Mayo 2016). p. 129
5. Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 30. Vol I. 30ª ed. Estados Unidos: Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América; 2007

6. Carrera Silva JO, Ribeiro Costa RM, Martina Teixeira F, Ramos Barbosa WL. Processing and Quality Control of Herbal Drugs and Their Derivatives. Brasil: INTECH; 2011
7. Deza M, Muños S. Metodología de la Investigación Científica. Perú: Fondo; 2008
8. Dutu Ligia E. Pharmacognostic Methods for Analysis of Herbal Drugs, According to European Pharmacopoeia. Romania: INTECH; 2012
9. Farmacopea Argentina. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Vol. I. 7ª ed. Argentina: Farmacopea Argentina; 2003
10. Farmacopea Europea. 7ª ed. Europa: Farmacopea Europea; 2011
11. Foro Farmacopea de los Estados Unidos. Topical and transdermal drug products. US Pharmacopeial Convención. 2009; 35(3): 750-764
12. Fuentes Paredes FM, Mendoza Yanavilva RA, Rosales Fernández AL, Cisneros Tarmeño RA. Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Ratón: Cuidado y manejo de ratones. ed. Lima: Gráfica Técnica S.R.L.; 2008
13. Gibson M. Pharmaceutical Pre formulation and Formulation. Vol 199. 2ª ed. Estados Unidos: Informa Healthcare USA; 2009
14. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio P. Metodología de la Investigación. 6ª ed. México: Mc Graw Hill-Interamericana Editores; 2014
15. Kuehl RO. Diseño de experimentos: Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación. 2ª ed. Estados Unidos: Thomson Learning; 2001
16. Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. España: Ediciones Omega; 2006
17. Mejía K, Rengifo E. Plantas Medicinales de uso popular en la Amazonía peruana: Achiote. 2ªed. Lima: Tarea Asociación Gráfica Educativa; 2000
18. Milton SJ. Estadística para Biología y Ciencias de la Salud. 3ª ed. España: Mc Graw - Interamericana de España; 2007
19. Miranda Martínez M, Cuéllar Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales: Conservación. La Habana: Félix Varela; 2001
20. Pineda EB, Alvarado EL, Hernández de Canales F. Metodología de la investigación: Manual para el desarrollo de personal de Salud. 2ª ed. Estados Unidos: Organización Panamericana de la Salud; 1994



21. Rodríguez Mellano JM, Marín Galvín R. Fisicoquímica de aguas [libro electrónico]. España: Ediciones Díaz de Santos S.A; 1999 [citado 2016 Mayo 16]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books>
22. Rowe R, Sheskey PJ, Quinn M E. Handbook of Pharmaceutical Excipientes. 6ª ed. Estados Unidos: Pharmaceutical Pres; 2009
23. Ruiz R. Diccionario Médico Teide. España: Teide S.A; 1992
24. San Martín Casamada R. Farmacognosia General. 2ª ed. España: Científico-Médico; 1958
25. Zavaleta Martínez A, Cabezas Sánchez C, Chang Neira J, Barnaby Rodríguez J. Análisis fitoquímico y el certificado de marcha fotoquímica. En: Registro y Control de Calidad de Recursos y Productos Naturales de Uso en Salud. Lima: Decisión Gráfica S.A.C; 1999

#### **PÁGINAS DE INTERNET.**

1. Acosta Díaz L, Victorero Cabrera G, Cruz Pérez LC. Uso de la medicina tradicional natural en pacientes diabéticos con afecciones podológicas. La Bixa [en línea] 2014 Junio 11 [fecha de acceso 2 de mayo de 2016]. Disponible en: [file:///C:/Users/usuario/Downloads/290-1106-1-PB%20\(4\).pdf](file:///C:/Users/usuario/Downloads/290-1106-1-PB%20(4).pdf)
2. Ahmad T, Bahadur Singh S, Pandey S. Phytochemical screening and physicochemical parameters of crude drugs: A Brief Review. IJPRR [en línea] 2013 Noviembre 13 [fecha de acceso 4 de mayo de 2016]; 2(12):53-60. Disponible en: <http://www.rroj.com>
3. Bhowmik D, Gopinath H, Pragati Kumar B, Duraivel S, Sampath Kumar KP. Recent advances in novel topical drug delivery system. The Pharma Journal [en línea] 2012 Enero 01 [fecha de acceso 15 de Mayo 2016]; 1(9): 12-31. Disponible en: [www.thepharmajournal.com](http://www.thepharmajournal.com)
4. Bermúdez S et al/ Videla E. Consenso sobre cicatrización de heridas. Dermatología Argentina [en línea] 2008 Julio 14 [fecha de acceso 2016 Mayo 6]; 14(4) 1-41. Disponible en: <http://www.dermatolarg.org.ar>
5. Comité de expertos de la WHO. La Farmacopea Internacional [libro electrónico]. 5ª ed. Estados Unidos: La Farmacopea; 2015 [citado 2016 mayo 4]. Disponible en: <http://apps.who.int>
6. Enfermería Dermatológica. La cicatrización de heridas. [Internet]. Barcelona: Instituto Enfermería Dermatológica; [actualizado 2008 Enero 01; citado 2016

- Mayo 6]. Disponible en: [file:///C:/Users/usuario/Downloads/Dialnet-LaCicatrizacionDeLasHeridas-4606613%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/usuario/Downloads/Dialnet-LaCicatrizacionDeLasHeridas-4606613%20(2).pdf)
7. Gautam A *et al* Kumar N. Identification, evaluation and standardization of herbal drugs: A review. *Der Pharmacia Lettre* [en línea] 2010 Diciembre 25 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(6): 302-315. Disponible en: [www.scholarsresearchlibrary.com](http://www.scholarsresearchlibrary.com). p.309
  8. Gennaro A. Remington Farmacia [libro electrónico]. Vol I.20<sup>a</sup> ed. Argentina: Médica Panamericana; 2003 [citado 2016 Mayo 4]. Disponible en: <http://book.google.com.pe/books>
  9. Guillermo F, Bonilla P, Arroyo J. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellaefolia R. et P.* en geles aplicados a *Ratus norvergicus*. *La Bixa. Folia dermatol. Perú* [en línea] 2005 Julio 21 [fecha de acceso 2 de mayo de 2016]; 16(1): 15-22. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe>
  10. Guio S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Rest* [en línea] 2009 Octubre 30 [fecha de acceso 12 de Mayo 2016]; 89(3):219-229. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
  11. Gupta P, Gandhi R. *Bixa orellana*: una revisión de su fitoquímica, usos tradicionales y farmacológicos. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. India [en línea] 2016 Febrero 26 [fecha de acceso 2 de mayo de 2016]; 4(3): 500-510. Disponible en: <http://www.wjpsonline>
  12. Gupta J, Sanjay G. Recent advances in semisolid dosage forms for dermatological aplicación. *Pharmaceutical Technology*, [en línea] 2002 Marzo 01 [fecha de acceso 20 de Junio 2016]; 144-162. Disponible en: [www.pharmtech.com](http://www.pharmtech.com)
  13. Instituto Nacional de Salud. Achiote. [Internet]. Lima: Instituto Nacional de Salud; [actualizado 2012 Octubre 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe>
  14. Juro S, Flores V, Mendoza Y, Carpio Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Junglas neotropica* Diels “nogal” en ratones albinos. *Folia dermatol. Perú* [en línea] 2010 Julio 21 [fecha de acceso 2 de mayo de 2016]; 21 (1):19-24. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe>
  15. Kumar V, Nagarajan K, Abdullah Khan A. Animal models for the evaluation of wound healing activity. *Internacional Bulletin of Drug* [en línea] 2016 Abril

- 22 [fecha de acceso 2 de mayo de 2016]; 3(5):93-107. Disponible en: <http://www.researchgate.net/publication/274010528>
16. Kumari K, Sachdeva S, Sachdeva M. Formulation and evaluation of topical hydrogel of mometasone furoate using different polymers. *Der Pharmacia Lettre* [en línea] 2013 Enero 01 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(1): 89-100. Disponible en: [www.ijpcsonline.com](http://www.ijpcsonline.com)
  17. Kundu S, Brahma S. Plant-based wound healing- A review. *World Journal of Pharmacy y Pharmaceutical Sciences*. India [en línea] 2016 Abril 25 [fecha de acceso 2 de mayo de 2016]; 5(5): 623-631. Disponible en: [www.wjpps.com](http://www.wjpps.com)
  18. Laboratorios Difco y BBL. Manual de Difco y BBL. 2ª ed [en línea] 2014 Junio 11 [fecha de acceso 2 de mayo de 2016]. Disponible en: <https://www.bd.com>
  19. Lourido Pérez H, Martínez Sánchez G. La *Bixa orellana* L. en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. *Rev Cubana Farm* [en línea] 2010 Enero 14 [fecha de acceso 2 de Mayo 2016]; 44 (2): 231-244. Disponible en: <http://scielo.sld.cu>
  20. Mahajan Suvarnalata S, Chaudhari R. Transdermal gel: As a novel drug delivery sysytem. *IJPLS* [en línea] 2016 Enero 15 [fecha de acceso 4 de mayo 2016]; 7(1): 4864-4871. Disponible en: [www.ijprbs.com](http://www.ijprbs.com)
  21. Mas J. Manual de cicatrización de heridas. [Internet]. Barcelona: Fundación del Dr. J. Mas; [actualizado 2008 Octubre 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: <http://www.fundacion-jordi-mas.org>
  22. McAuley WJ, Kravitz L. Pharmacokinetics of topical products. *Dermatological Nursing*, [en línea] 2012 Enero 01 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 11(2): 40-44. Disponible en: [www.bdng.org.uk](http://www.bdng.org.uk)
  23. Pandey A, Tripathi S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *JPP* [en línea] 2013 Diciembre 25 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(5): 115-119. Disponible en: [www.phytojournal.com](http://www.phytojournal.com)
  24. Prabhjotkaur, Loveleenpreetkaur, Khan MU. Topical formulations and hydrogel: An overview. *IJAPBC*, [en línea] 2013 Marzo 01 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(1): 201-206. Disponible en: [www.ijapbc.com](http://www.ijapbc.com)
  25. Radilla Solís O. Propiedades y usos medicinales de achiote (*Bixa orellana*). [Internet]. México: Radilla Solís O; [actualizado 2012 Octubre 01; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en:

- [http://www.tlahui.com/educa/comunidad/tesinas/herbolaria\\_achiote\\_bixa\\_or\\_ellana.pdf](http://www.tlahui.com/educa/comunidad/tesinas/herbolaria_achiote_bixa_or_ellana.pdf)
26. RAINTREE [página de internet]. Estados Unidos: Leslie Taylor; c 1996-2013 [actualizado 2013 Febrero 01; citado 2016 Mayo 05] [cerca 2 pantallas]. Disponible en: [www.rain-tree.com](http://www.rain-tree.com)
  27. Sierra Exportadora. Achiote. [Internet]. Lima: Sierra exportadora; [actualizado 2013 Noviembre 21; citado 2016 Mayo 6]. Disponible en: [http://www.sierraexportadora.gob.pe/perfil\\_comercial/ACHIOTE.pdf.p.10](http://www.sierraexportadora.gob.pe/perfil_comercial/ACHIOTE.pdf.p.10)
  28. Subalakshmi M *ét al*/Mural R. An overview of the current methodologies used for the evaluation of drugs having wound healing activity. IJEPJOURNAL [en línea] 2014 [fecha de acceso 2 de Mayo de 2016]; 4(2):127-131. Disponible en: [www.ijepjournal.com](http://www.ijepjournal.com)
  29. Tahsildar Apeksha GT, Dattatraya Manchar S, Ravindra S. Hidrogel: A novel technique for preparation of topical gel. WJPPS [en línea] 2013 Octubre 24 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2(6):4520-4541. Disponible en: [www.wjpps.com](http://www.wjpps.com)
  30. Thakare VM, Tekade BW, Patil BR. Formulation and characterisation of ketoprofen tropical gel. IJCPCR [en línea] 2014 Enero 01 [fecha de acceso 15 de Mayo 2016]; 4(1): 35-42. Disponible en: [www.ijcpcr.com](http://www.ijcpcr.com)
  31. Thakur R, Jain N, Pathak R, Singh Sandhu S. Practices in wound Healing studies of plants. Hindawi [en línea] 2011 Febrero 24 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 2011(438056): 1-17. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/51455279\\_Practices\\_In\\_Wound\\_Healing\\_Studies\\_Of\\_Plants](https://www.researchgate.net/publication/51455279_Practices_In_Wound_Healing_Studies_Of_Plants)
  32. Tránsito López Luengo M. Flavonoides [en línea] 2002 Abril [fecha de acceso 28 de Abril 2016]; 21(4): 108-113. Disponible en: [www.doymafarma.com](http://www.doymafarma.com)
  33. Vashisht S, Sharma S, Benerjee A. Hydrogels used as topical drug delivery system: An overview. INT J RECENT ADV PHARM RES, [en línea] 2016 Enero 01 [fecha de acceso 4 de Mayo 2016]; 6(1): 31-41. Disponible en: [www.IJRAPRONLINE.com](http://www.IJRAPRONLINE.com)

## ANEXO 01

CONSTANCIA DE LA IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA DEL ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA**  
**HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)**



“AÑO DE LA CONSOLIDACION DEL MAR DE GRAU”

**CONSTANCIA Nº 06-2016-HUSA**

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra seca de la planta presentada por Susan Vanessa Quispe Grandiller egresado de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas, fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico seco, para la realización de su trabajo de investigación “Determinación del efecto cicatrizante de un gel a base de hojas de achiote en ratas (*Rattus wistar*)” para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la especie:

**Division** Magnoliophyta  
**Clase** Magnoliopsida  
**Subclase** Rosidae  
**Orden** Violales  
**Familia** Bixaceae  
**Genero** *Bixa*  
**Especie** *Bixa orellana* L “Achiote”

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

Arequipa 28 de Abril del 2016.

  
 Blgo. Leoncio Manfio Herrera  
 DIRECTOR  
 Herbarium Arequipense (HUSA)



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado  
 Teléfono: (054) 237755 / 984248674  
 Apartado Postal: 0028  
 AREQUIPA – PERÚ

## ANEXO 02

PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE CONTROL DE CALIDAD A LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

**FIGURA 11:** Determinación de cenizas totales.



Z: 3 gramos de hojas de achiote en el crisol después de la incineración (cenizas).



X: peso del crisol vacío.

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{Z-X}{Y} \times 100$$

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{40.96 \text{ g} - 40.84 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100$$

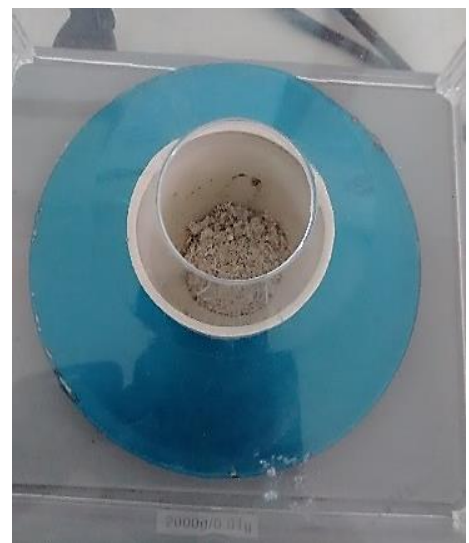
$$\% \text{ Cenizas totales} = 4\%$$

Donde:

Z = peso del crisol con las cenizas (incineración completa) (g)

X = peso del crisol vacío (g)

Y = peso de la planta tomada (g)



**Fuente:** elaboración propia

**FIGURA 12:** Determinación del porcentaje de humedad.



Wb: peso de 1 gramo de hojas de achiote antes del secado



Wa: peso de 1 gramo de hojas de achiote después del secado.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{W_b - W_a}{W_s} \times 100$$

$$\% \text{ Humedad} = \frac{27.22 \text{ g} - 27.11 \text{ g}}{1 \text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{ Humedad} = 11\%$$

Donde:

Ws = peso de la muestra (g)

Wb = peso del crisol que contiene la muestra antes del secado (g)

Wa = peso del crisol que contiene la muestra después del secado (g)

Ws: 1 gramo de hojas de achiote.

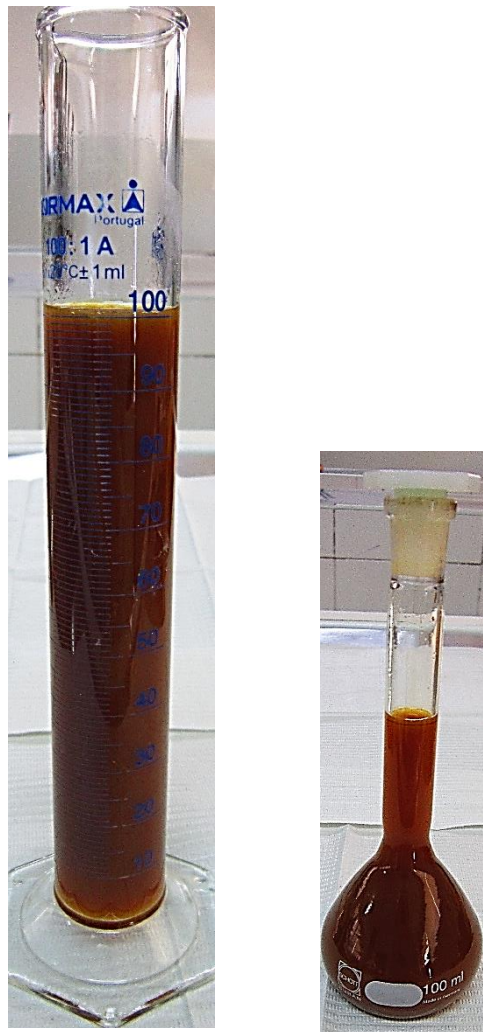


**Fuente:** elaboración propia.

**ANEXO 03**

REALIZACIÓN DE PRUEBAS FÍSICAS AL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.).

**FIGURA 13:** Extracto acuoso de hojas de achiote.



**Fuente:** elaboración propia.



**FIGURA 14:** Peso del agua destilada y el extracto acuoso de hojas de achiote en un picnómetro para determinar su densidad relativa.



p2: peso del picnómetro con el extracto acuoso de hojas de achiote.



p1: peso del picnómetro con el agua destilada.

$$\text{Densidad relativa } (\rho_r) = \frac{p2 - p0}{p1 - p0}$$

$$\text{Densidad relativa} = \frac{40.90 \text{ g} - 15.94 \text{ g}}{40.52 \text{ g} - 15.94 \text{ g}}$$

$$\text{Densidad relativa} = 1.01 \text{ g/ml}$$

Donde:

p2 = peso de la sustancia contenida en el picnómetro (g)

p1 = peso del agua destilada contenida en el mismo picnómetro (g)

p0 = peso del picnómetro vacío (g)



p0: peso del picnómetro vacío.

**Fuente:** elaboración propia.

**FIGURA 15:** Tiempo que demora en escurrir el agua destilada y el extracto acuoso de las hojas de achiote a través del tubo capilar del viscosímetro de Ostwald para determinar su viscosidad relativa.



$t_2$ : tiempo en minutos 1.33, en segundos es 93 s

$d_2$ : densidad  $1\text{g/cm}^3$

$n_2$ = viscosidad del agua destilada.



$t_1$ : tiempo en minutos 9.01, en segundos es 541 s

$d_1$ :  $1.02\text{ g/cm}^3$

$n_1$ = viscosidad del extracto.

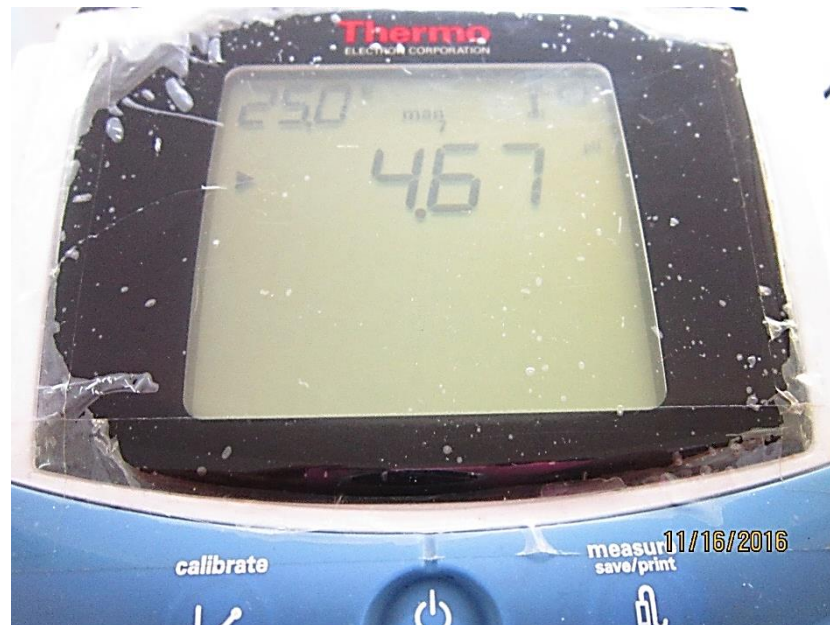
$$\text{Viscosidad relativa } (n_r) = \frac{n_1}{n_2} = \frac{d_1 \times t_1}{d_2 \times t_2}$$

$$\text{Viscosidad relativa} = \frac{n_1}{n_2} = \frac{1.02 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \times 541 \text{ s}}{1 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \times 93 \text{ s}}$$

$$\text{Viscosidad relativa} = 5.9$$

**Fuente:** elaboración propia.

**FIGURA 16:** Valor del pH del extracto acuoso de hojas de achiote.

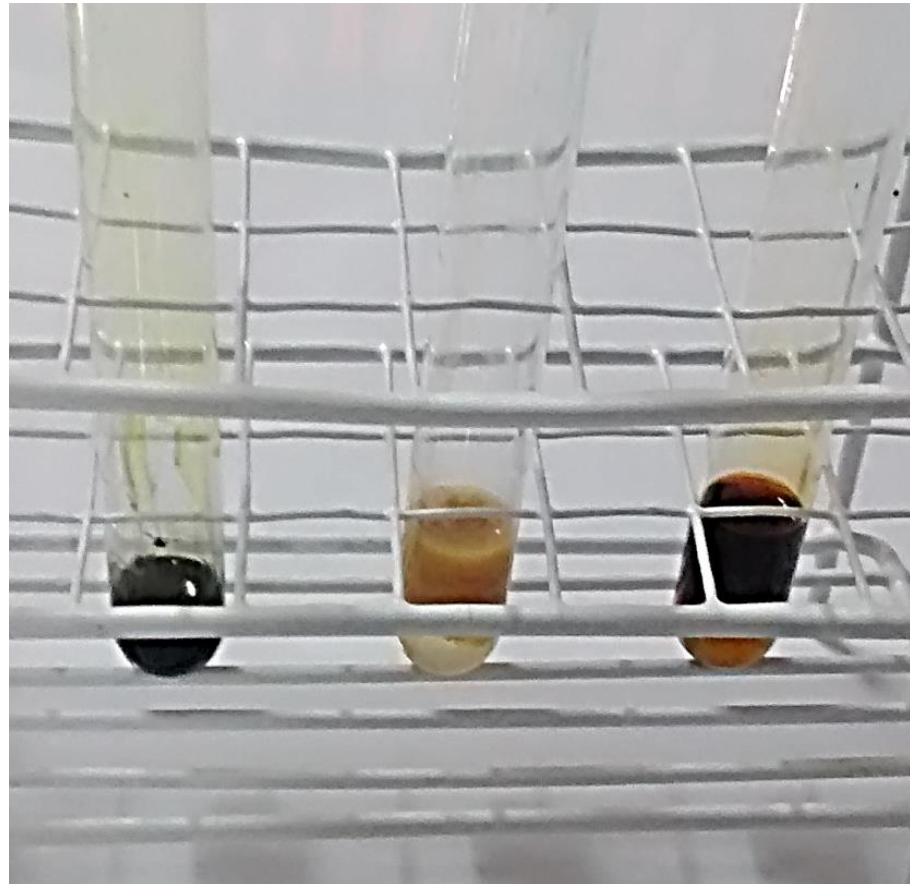


**Fuente:** elaboración propia.

**ANEXO 04**

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN EL EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.

**FIGURA 17:** Presencia de fenoles, taninos y flavonoides en el extracto acuoso de hojas de achiote.



**Fuente:** elaboración propia.

En la figura 17 se muestra; la presencia de los siguientes metabolitos secundarios según su coloración: en el tubo de la izquierda fenoles, el tubo del medio taninos y el tubo de la derecha flavonoides.



**ANEXO 05**

FORMULACIÓN DEL GEL HIDRÓFILO DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.

**FIGURA 18:** Preparación del gel de hojas de achiote al 18%.



**Fuente:** elaboración propia.

**ANEXO 06**

PRUEBAS FÍSICAS, FITOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS AL GEL DE HOJAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) AL 18%.

**FIGURA 19:** Características organolépticas del gel de hojas de achiote.



**Fuente:** elaboración propia.

Aspecto: Homogéneo.

Color: Amarillo-pardo.

Olor: Herbal al achiote.

Sensación al tacto: Suave.

Revisión de grumos: Ausencia.

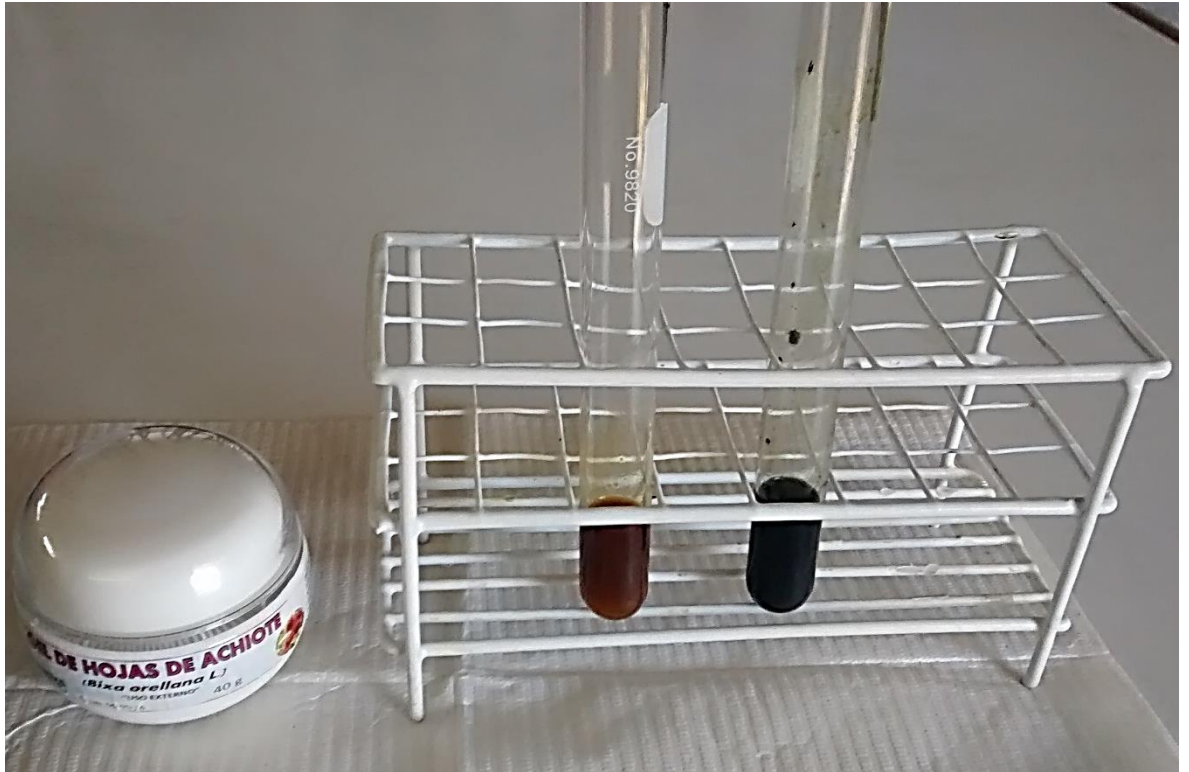
**FIGURA 20:** Valor del pH del gel de hojas de achiote al 18%.



**Fuente:** elaboración propia.

Se tomaron tres lecturas que dio los siguientes valores de pH: 7.15, 7.18 y 7.16 siendo el valor promedio de pH: 7.16

**FIGURA 21:** Presencia de flavonoides, taninos y a la vez de fenoles en el gel de hojas de achiote al 18%.

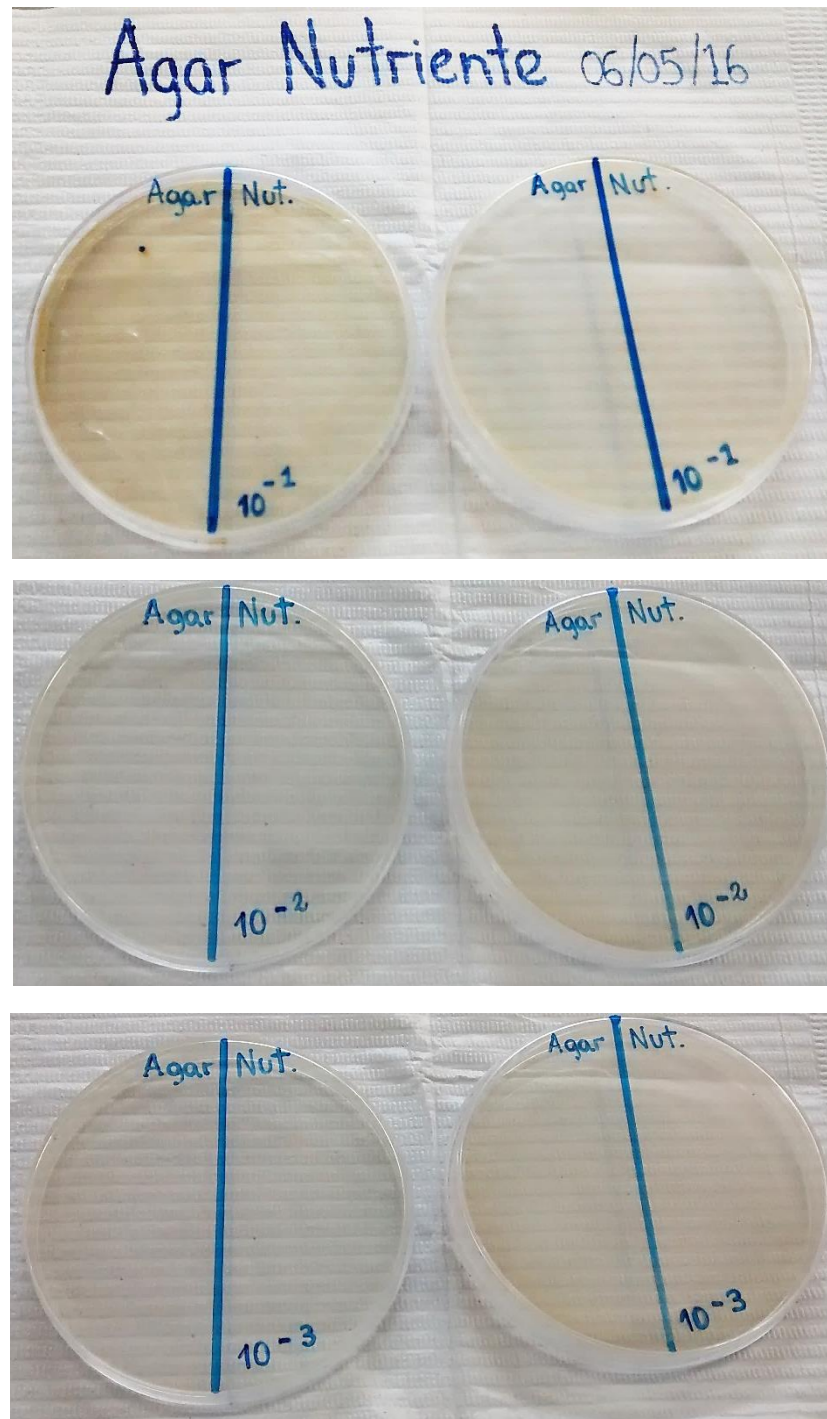


**Fuente:** elaboración propia.

En la figura 21 se muestra; la presencia de los siguientes metabolitos secundarios según su coloración: en el tubo de la izquierda flavonoides y el tubo de la derecha taninos condensados, a la vez fenoles.

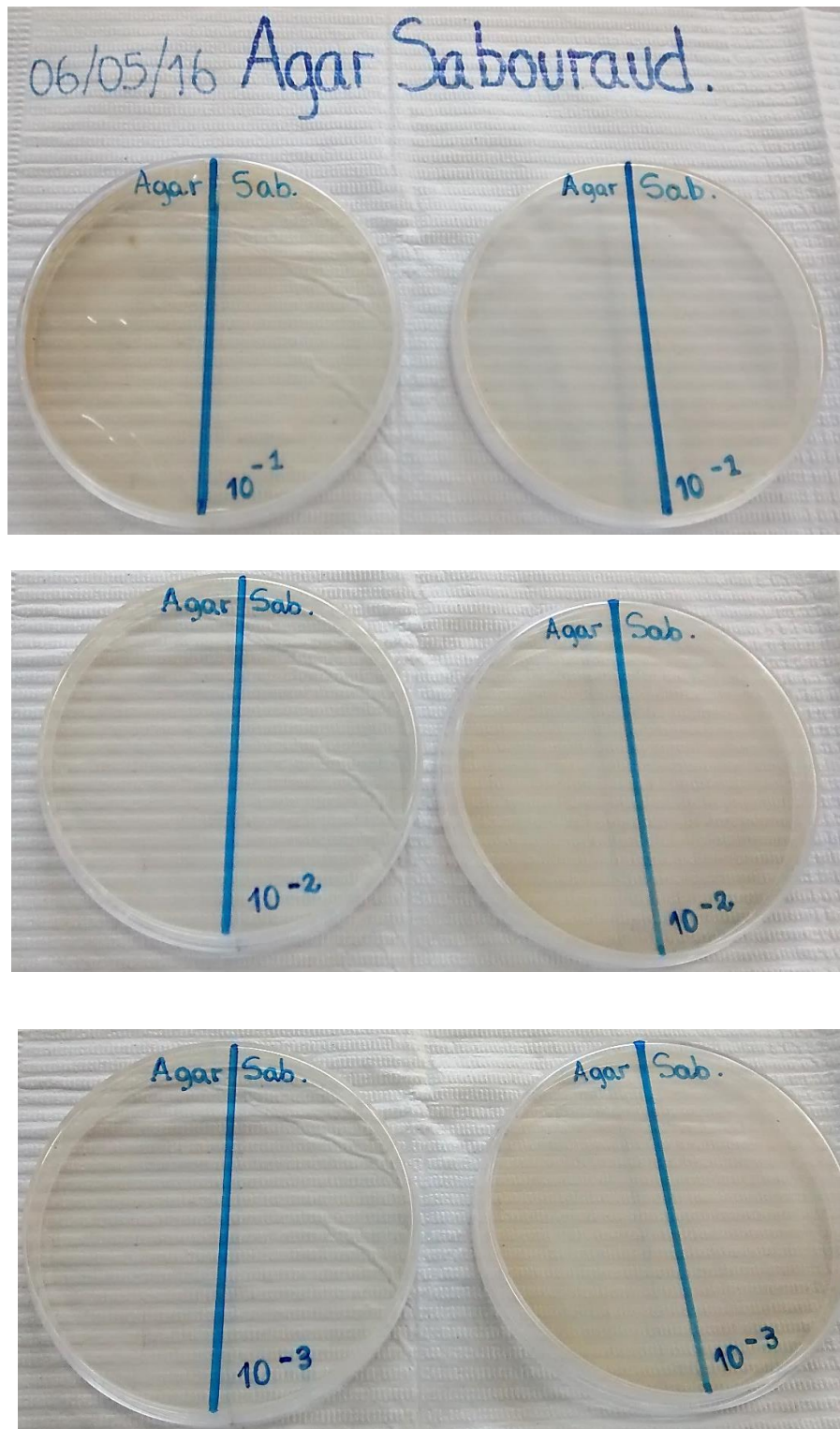


**FIGURA 22:** Placas de Agar Nutriente de las diluciones del gel de hojas de achiote al 18% para la identificación de mesófilos aerobios.



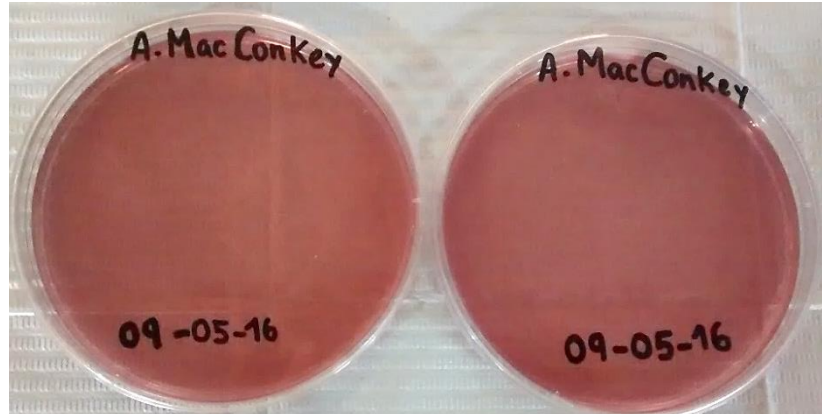
**Fuente:** elaboración propia.

**FIGURA 23:** Placas de Agar de Sabouraud con las diluciones del gel de hojas de achiote al 18% para la identificación de mohos- levaduras.



**Fuente:** elaboración propia.

**FIGURA 24:** Placas de Agar de Mac Conkey con la dilución del gel de hojas de achiote al 18% para la identificación de *Escherichia coli*.



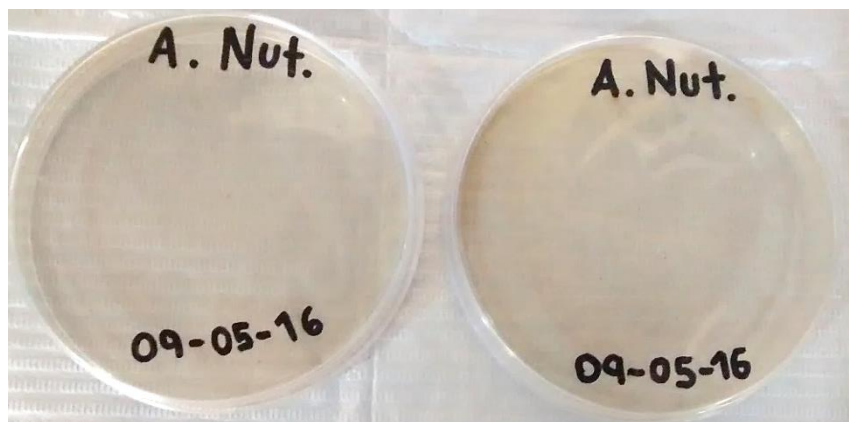
*Fuente:* elaboración propia.

**FIGURA 25:** Placas de Agar de Manitol salado con la dilución del gel de hojas de achiote al 18% para la identificación de *Staphylococcus aureus*.



*Fuente:* elaboración propia.

**FIGURA 26:** Placas de Agar Nutriente con la dilución del gel de hojas de achiote al 18% para la identificación de *Pseudomonas aeruginosa*.



*Fuente:* elaboración propia.



**ANEXO 07**

INDUCCIÓN DE LA HERIDA POR ESCISIÓN Y EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN EN LAS RATAS (*Rattus wistar*).

**Figura 27:** Medición del tamaño de 2 cm de longitud para la inducción de la herida en el lomo de la rata Wistar.



**Fuente:** elaboración propia.

**Figura 28:** Medición de la profundidad de 2 mm en la hoja de bisturí para la inducción de la herida en el lomo de la rata Wistar.



**Fuente:** elaboración propia.

**Figura 29:** Medición de la herida inducida de 2 cm de longitud y de 2 mm de profundidad en lomo de la rata Wistar.



**Fuente:** elaboración propia.

**Figura 30:** Identificación con la asignación de un número en las colas de las ratas Wistar que pertenecían al grupo experimental.



**Fuente:** elaboración propia.

**Figura 31:** Identificación con la asignación de un número más un punto en las colas de las ratas Wistar que pertenecían al grupo control.



**Fuente:** elaboración propia.



**Figura 32:** Colocación de una capa del gel de hojas de achiote al 18% sobre la herida inducida en el lomo de la rata Wistar del grupo experimental.



**Fuente:** elaboración propia.



**FIGURA 33:** Proceso de cicatrización de las heridas inducidas en las ratas (*Rattus wistar*) en presencia y ausencia del tratamiento con el gel de hojas de achiote al 18% en una rata del grupo experimental y una rata del grupo control respectivamente.

**GRUPO CONTROL.**

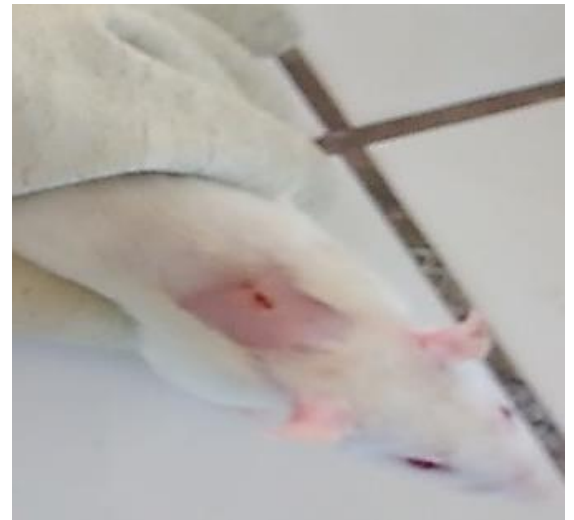


**(Después de 3 días)**



**(Después de 6 días)**

**GRUPO EXPERIMENTAL.**



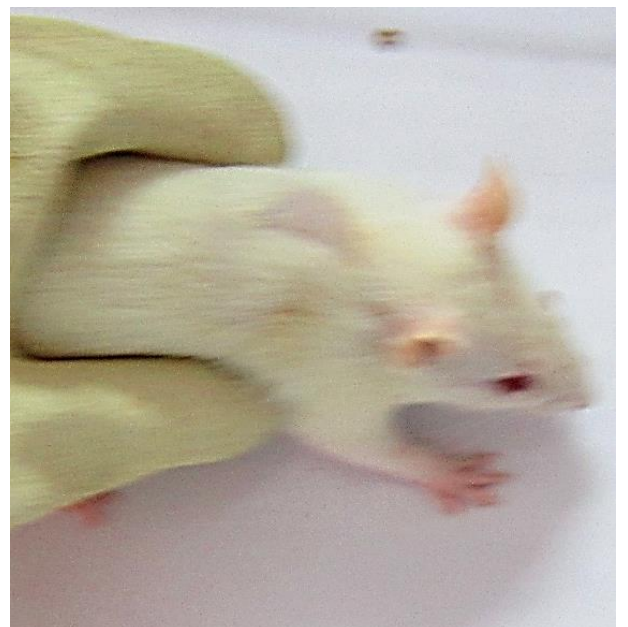


(Después de 9 días)



(Después de 12 días)

(A)



(B)

**Fuente:** elaboración propia.

Leyenda:

Columna A: Se presenta la evolución del proceso de cicatrización del grupo control que no recibió tratamiento.

Columna B: Se presenta la evolución del proceso de cicatrización del grupo experimental que recibió tratamiento con el gel de hojas de achiote al 18%

## ANEXO 08

HOJA DE REGISTRO DE DATOS DE LAS MEDIDAS DE CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS INDUCIDAS EN LAS RATAS (*Rattus wistar*).

Medidas de cicatrización (mm)	GRUPO EXPERIMENTAL (CON TRATAMIENTO )									GRUPO CONTROL (SIN TRATAMIENTO)									
	Nº de animales de estudio	Día 1 (inicio herida 2cm )	Día 3º	Día 5º	Día 7º	Día 9º	Día 11º	Día 13º	Día 14º	Día 15º	Día 1º (inicio herida 2cm)	Día 3º	Día 5º	Día 7º	Día 9º	Día 11º	Día 13º	Día 14º	Día 15º
1																			
2																			
3																			
4																			
5																			

**Fuente:** elaboración propia.

## ANEXO 09

REGISTRO DE DATOS DE LAS MEDIDAS DE CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS INDUCIDAS EN LAS RATAS (*Rattus wistar*).

Medidas de cicatrización (mm)	GRUPO EXPERIMENTAL (CON TRATAMIENTO )									GRUPO CONTROL (SIN TRATAMIENTO)									
	Nº de animales de estudio	Día 1º (inicio herida 2 cm )	Día 3º	Día 5º	Día 7º	Día 9º	Día 11º	Día 13º	Día 14º	Día 15º	Día 1º (inicio herida 2 cm )	Día 3º	Día 5º	Día 7º	Día 9º	Día 11º	Día 13º	Día 14º	Día 15º
1	2	1.7	1.2	0.7	0	0	0	0	0	2	2	1.5	1	0.5	0	0	0	0	0
2	2	1.5	0.5	0	0	0	0	0	0	2	2	1.2	1	0.6	0	0	0	0	0
3	2	1.2	0.5	0.3	0	0	0	0	0	2	1.5	1	0.5	0.5	0	0	0	0	0
4	2	1.4	0.4	0	0	0	0	0	0	2	1.6	1.5	1.5	0.5	0.5	0	0	0	0
5	2	1.4	0.7	0.3	0	0	0	0	0	2	1.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0

**Fuente:** elaboración propia.

## GLOSARIO DE TÉRMINOS.

**1.- ANGIOGÉNESIS:** Es un proceso fisiológico que consiste en la formación de vasos sanguíneos nuevos a partir de los vasos preexistentes. La angiogénesis es un fenómeno normal en la cicatrización de las heridas.

**2.- ANTIFLOGÍSTICO:** Que sirve para combatir la inflamación.

**3.- FIBROBLASTOS:** Es una célula que se desplaza lentamente y en condiciones (reparación y cicatrización de heridas) suele reproducirse con facilidad.

**4.- FIBRINA:** Es una proteína fibrilar con la capacidad de formar redes tridimensionales.

**5.- EMOLIENTE:** Sustancia que sirve para ablandar relajar una zona inflamada, de uso externo.

**6.- EMULGENTE:** Sustancias usadas para mantener la dispersión uniforme de dos o más fases.

**7.- REOLOGÍA:** En las propiedades reológicas del gel son la tensión necesaria para el flujo, la resistencia para romper la estructura del gel.

**8.- SOL:** Suspensión estable de partículas sólidas coloidales en un medio líquido.

**9.- TIXOTROPÍA:** El término tixotropía describe la propiedad del fluido que pasa desde gel para estado de sol a través de agitación. El vínculo entre las partículas en estos geles es muy débil y puede ser roto por la agitación. El sol resultante volverá a gel.

