



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTILÁN

ELABORACIÓN DE UNA FORMA FARMACÉUTICA  
SÓLIDA (ÓVULO) CON EXTRACTO DE *Caléndula*  
*officinalis*, PARA EL TRATAMIENTO DE ECTROPIÓN E  
INFECCIONES VAGINALES HUMANAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACEÚTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ANGELES RICAÑO MARA ELIDA

ASESORES: M.V.Z GERARDO CRUZ JÍMENEZ  
Dr. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
M.V.Z. JOSE ANTONIO LICEA VEGA

CUAUTILÁN IZCALLÍ, EDO. DE MÉXICO

2008.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN



DEPARTAMENTO DE

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
P R E S E N T E

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

"Elaboración de una forma farmacéutica (óvulo)  
con extracto de *Galándula officinalis* para el  
tratamiento de ectropión e infecciones vaginales  
humanas.

que presenta la pasante: Mrs. Erida Angeles Ricaño  
con número de cuenta: 404001434 para obtener el título de:  
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 29 de Agosto de 2008

PRESIDENTE MVZ. Gerardo Cruz Jiménez

VOCAL MG. Sofía González Gallardo

SECRETARIO OPB. Brígida del Carmen Camacho Briceño

PRIMER SUPLENTE Dra. Alma Lucila Núñez del Arco

SEGUNDO SUPLENTE MG. Ma. Guadalupe Aviles Robles

## **GRACIAS**

Doy Gracias a mis padres Guillermo y Eulalia, por todo su apoyo, motivación, comprensión, el buen ejemplo que siempre me han dado para poder alcanzar uno de mis objetivos.

A mi hermana por todo su apoyo y ayuda en los momentos más difíciles.

En memoria de mi abuelita Lidia, gracias por todo el cariño que me brindaste y por tu ayuda para lograr una meta tan importante.

A ti Alan por que siempre has sido incondicional con tu amor y comprensión, GRACIAS por todo tu apoyo.

A mis amigas por su compañía y apoyo durante la curso de la carrera.

## **AGRADECIMIENTOS**

A MIS ASESORES

M.V.Z GERARDO CRUZ JÍMENEZ  
Dr. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
M.V.Z. JOSE ANTONIO LICEA

Por su amistad y apoyo durante la realización de esta tesis, gracias por compartir conmigo algunos de todos los conocimientos que poseen.

Al Dr. David Quintanar por su paciencia y por todo su apoyo, en el inicio de este proyecto.

A mis compañeros de Laboratorio de Posgrado de Farmacia: Daniel, Pamela, Miguel, Clara y demás integrantes por todo su apoyo durante mi estancia en el mismo. Al igual a la Sra. Erika, Mónica, Ulises, Alejandro, Gabriela que se encontraban en el Laboratorio 10 de Microbiología, MUCHAS GRACIAS, por toda su ayuda durante el trabajo experimental, y a todos gracias por su amistad.

## ÍNDICE GENERAL

LISTA DE FIGURAS .....	A
LISTA DE TABLAS.....	B
RESUMEN.....	11

## INTRODUCCIÓN

1. MARCO TEORICO.....	12
1.1 Anatomía del Sistema Genital Femenino.....	13
1.1.1 Órganos Internos.....	13
1.1.2 Órganos Externos.....	17
2. Infecciones Ginecológicas.....	18
2.1 Síntomas Generales.....	19
2.2 Diagnóstico.....	21
2.3 Tipos de infecciones ginecológicas.....	21
2.3.1 Vaginosis bacteriana.....	21
2.3.2 Vulvovaginitis.....	23
2.3.3. Cervicitis.....	25
2.4 Ectropión.....	25
2.4.1. Tratamiento.....	28
3. Fitoterapia.....	29

3.1 Antecedentes.....	29
3.2 Caléndula officinalis.....	31
3.2.1 Fitoquímica.....	31
4. Formas de Administración vaginal.....	37
4.1 Definición.....	38
4.2 Características generales.....	38
4.2.1 Excipientes.....	38
4.2.1.1. Clasificación.....	39
4.2.2 Elaboración.....	40
4.3. Ensayos físicos, químicos y biológicos.....	40
OBJETIVOS.....	42

## MATERIAL Y METODOS

5. Parte experimental.....	46
5.1. Material.....	46
5.2. Reactivos.....	47
5.3. Equipos.....	47
5.4. Diagrama de Trabajo.....	49
5.5. Metodología.....	51
5.5.1. Elaboración del extracto.....	52

5.5.2. Prueba de esterilidad.....	52
5.5.3. Obtención de extracto seco.....	53
5.5.4. Caracterización de los cristales por Espectroscopia UV-VIS.....	54
5.5.5. Elaboración de óvulos.....	54
5.5.6. Pruebas de esterilidad.....	56
5.5.7. Pruebas de inhibición de crecimiento bacteriano.....	56
5.5.8. Prueba de efecto bactericida o bacteriostático.....	57
5.5.9. Ensayos de la forma farmacéutica.....	57
6. Resultados.....	60
7. Discusión.....	73
8. Conclusiones y Sugerencias.....	92
9. Referencias.....	95



## LISTA DE FIGURAS

Figura No. 1 Órganos Genitales Femeninos Internos.....	13
Figura No. 2 Vista de Cérvix Normal.....	16
Figura No. 3 Órganos Genitales Femeninos Externos.....	17
Figura No. 4 Evolución de la flora bacteriana en mujeres normales y con vaginosis bacteriana.....	23
Figura No. 5 Dibujo del daño por Ectropión.....	26
Figura No. 6 Fotografía de Ectropión.....	27
Figura No. 7 Planta de Caléndula officinalis.....	32
Figura No. 8 Flor de Caléndula officinalis.....	33
Figura No. 9 Espectro del extracto.....	62
Figura No. 10 Forma farmacéutica (óvulos).....	63
Figura No. 11 Prueba de esterilidad de la forma farmacéutica Lote 1.....	64
Figura No. 12 Prueba de esterilidad de la forma farmacéutica Lote 2.....	65
Figura No. 13 Resultado prueba MTT.....	69
Figura No. 14 Placa de BAB no. 1 con <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .....	71
Figura No. 15 Placa de BAB no. 2 con <i>Enterococo</i> y <i>Candida albicans</i> .....	72

A

## LISTA DE TABLAS

Tabla No. 1 Características de diagnóstico y tratamiento de las Infecciones vaginales.....	20
Tabla No. 2 Clasificación de excipientes para la elaboración de óvulos.....	39
Tabla No. 3 Resultados prueba uniformidad de peso.....	66

## GRÁFICO

Gráfico No. 1 Disolución de la forma farmacéutica <i>in-vitro</i> .....	67
---	----

# **Resumen**

## RESUMEN

Sin duda las infecciones vaginales humanas representan en todo el mundo un alto índice de consulta en la mayoría de las instituciones que prestan los servicios de salud. Estas pueden ser causadas por diversas entidades, desde bacterias aerobias y anaerobias, hongos, virus y parásitos, algunos de estos pueden o no ser transmitidos sexualmente. Algunos factores que predisponen a la mujer en edad fértil a estas enfermedades son los tratamientos hormonales, debido a que modifica la consistencia del moco cervical y el pH, el uso del dispositivo intrauterino y duchas vaginales. (Cruz, R. et. al.1982)

El objetivo principal de este trabajo es realizar una forma farmacéutica (óvulo) a base de glicerina-gelatina con extracto de ***Caléndula officinalis*** para el tratamiento de las infecciones vaginales y ectropión, para lo cual en el diseño de la misma se utilizó una mezcla de excipiente glicerina-gelatina-agua, en una proporción de 60%, 10% y 30% respectivamente; utilizando el método de moldeado para la fabricación. Esta forma farmacéutica fue sometida a diversos ensayos estipulados en la Farmacopea Española, entre los cuales encontramos perfil de disolución y pruebas de esterilidad, uniformidad de masa

y contenido del principio activo, así de esta manera comprobar su calidad, al igual analizar si el efecto del extracto es bactericida o bacteriostático en presencia de las bacterias y levaduras más comúnmente causantes de este problema ginecológico.

Los excipientes empleados en la elaboración de la forma farmacéutica son apropiados, no interfieren con las propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas del extracto, también permiten la liberación de 97mg de extracto en un tiempo de liberación igual a 2h, en el cual observamos que es el necesario para tener un efecto bacteriostático en presencia de *Enterococos*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, presentando efecto bactericida con *Escherichia coli*.



# **Marco Teórico**

## INTRODUCCIÓN

### 1. ANATOMIA DEL SISTEMA GENITAL FEMENINO

El sistema genital femenino está conformado por órganos internos y externos, los primeros se integran de ovarios, trompas uterinas, útero y vagina; los segundos están conformados por la vulva, junto con sus órganos anexos. (Tortora, G. 2003)

#### 1.1 ÓRGANOS INTERNOS

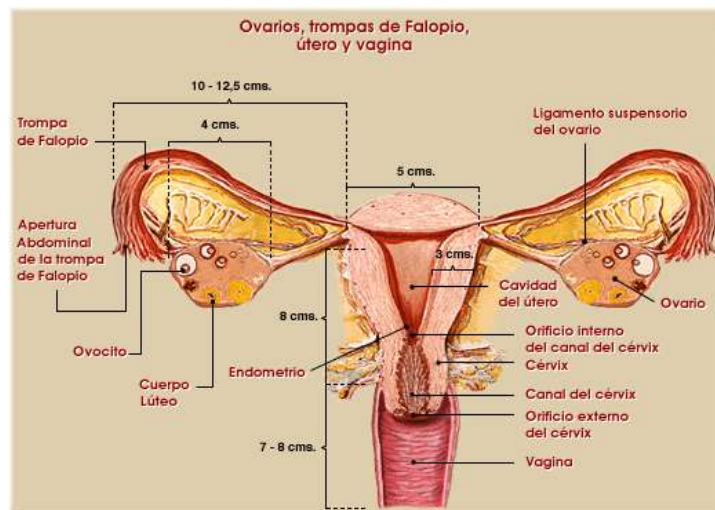


Figura No. 1 Organos genitales femeninos internos.

Tomada de Tortora, G. (2003).



Los órganos internos femeninos se integran por ovario, trompa uterina, útero y vagina, como se muestra en la figura no. 1, y los cuales se describen a continuación:

#### ❖ **OVARIO**

Glándula sexual femenina que por su secreción interna (endocrina) asegura los caracteres de la feminidad y por su secreción externa elabora los ovocitos primarios secundarios, células genitales femeninas. Tiene forma ovoide, algo aplastada, con una longitud de 2.5 a 4.5cm y un espesor de 0.5 a 1cm. (Latarjet, M. 2005).

#### ❖ **TROMPA UTERINA**

También llamada trompa de Falopio u oviducto, es un conducto bilateral, extendido desde la extremidad tubárica del ovario (lateralmente), hasta el cuerno del útero (medialmente). Este conducto muscular, tapizado por una mucosa, conduce al ovocito hacia la cavidad uterina. Tiene una longitud de 10 a 12cm. (Tortora, G. 2003)

#### ❖ **ÚTERO**

También llamado matriz, es un órgano muscular, hueco, se encuentra tapizado por mucosa, destinado a recibir el huevo fecundado, alberga el feto durante la gestación y

lo expulsa en el momento del parto. Tiene forma de un cono aplanado de adelante hacia atrás. El cuerpo del útero, esta constituido de una cara vesical, cara intestinal, fondo del útero, dos bordes laterales. El istmo del útero se encuentra entre el cuerpo y el cuello del útero, su longitud es de 1cm. (Latarjet, M. 2005).

El cuello uterino es la parte fibromuscular inferior del útero. De forma cilíndrica o cónica, mide de 3 a 4 cm de largo y 2,5 cm de diámetro. Como se observa en la figura no. 2. Lo sostienen el ligamento redondo y los ligamentos uterosacros, que van de las partes laterales y posterior del cuello uterino a las paredes de la pelvis ósea; la mitad inferior del cuello uterino, llamada hocico de tenca o porción vaginal, penetra en la vagina por su pared anterior, mientras la mitad superior queda por encima de la vagina.

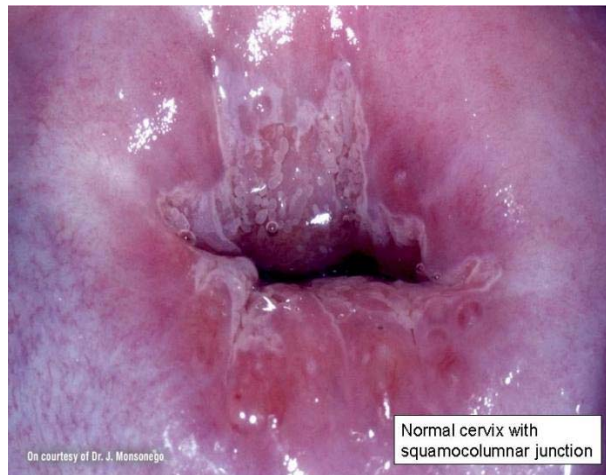


Figura No. 2. Vista de Cérvix Normal.

La porción del cuello uterino exterior al orificio externo se llama **exocérvix**, es la parte más fácilmente visualizable en la exploración con espéculo. La porción del cuello uterino interior al orificio externo se denomina **endocérvix**, para cuya visualización es preciso estirar o dilatar el orificio externo. El tamaño y la forma del cuello uterino varían según la edad, el número de partos y el momento del ciclo hormonal de la mujer. (Latarjet, M. 2005).

#### ❖ VAGINA

Órgano musculomembranoso que va desde el útero hasta la vulva, es el órgano femenino de la cópula, situado en la cavidad pelviana arriba y en el periné abajo.

Su dirección es oblicua hacia abajo y adelante. (Latarjet, M. 2005).

## 1.2 ORGANOS EXTERNOS

Se encuentran situados por debajo de la pared abdominal anterior, en el periné anterior (región urogenital), por delante del ano, por dentro y arriba de la cara medial de los muslos, como se muestra en la figura no. 3.

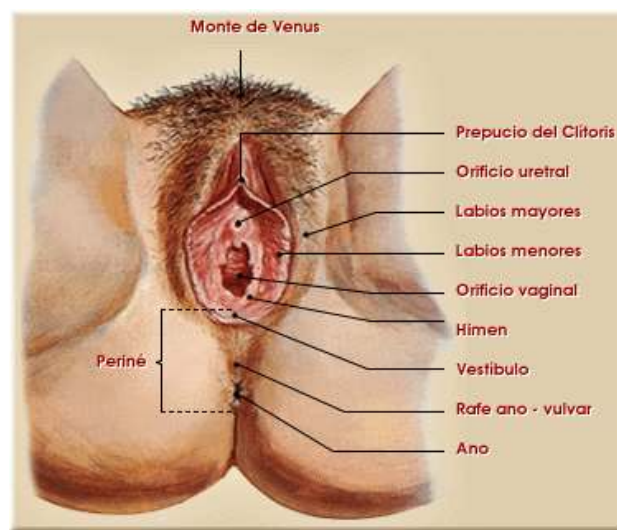


Figura No. 3 Órganos genitales femeninos externos.  
Tomada de Ausina, V. (2006)

La vulva esta coronada por el monte del pubis e incluye a las formaciones labiales entre las cuales se abren la uretra y la vagina. (Latarjet, M. 2005)

## 2. INFECCIONES GINECOLOGICAS

Las infecciones genitales representan una de las causas que con mayor frecuencia son origen de consulta ginecológica en todo el mundo. Los agentes etiológicos de estas incluyen levaduras como *Candida*, protozoarios, bacterias y virus. Por la sintomatología que presentan es clínicamente difícil de diferenciar; el diagnóstico se logra valiéndose de métodos de cultivo microbiológicos. (Cruz, R. et. al.1982)

La flora vaginal en la mujeres, esta constituida por *Lactobacillus*, pero es fácil encontrar otros microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa* negativos, *Streptococcus viridans*, *enterococos*, *Streptococcus agalactiae*, *Peptostreptococcus*, *Corynebacterium*, *Actinomyces*, *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter*, *Gardnerella vaginalis*, *Clostridium*, *Micoplasma*, Levaduras, *Trichomonas*, etc. (Ausina, V. 2006)

Varios factores influyen en la cantidad y características de los microorganismos presentes en la flora vaginal; entre ellos el pH, contenido de glucógeno y de glucosa, así como los *Lactobacillus*. Cuando el complejo equilibrio es alterado los microorganismos potencialmente

patógenos proliferan a concentraciones suficientemente elevadas como para producir síntomas. Existen también otros factores para que esta flora pueda verse alterada como la hospitalización, la utilización de antibióticos aunque sea de forma profiláctica, las intervenciones quirúrgicas, el ciclo menstrual y la utilización de métodos anticonceptivos. (García, J.1998). Algunas infecciones se muestran en la tabla No. 1, en la cual podemos analizar cada uno de los factores que predisponen ha ellas, los síntomas característicos y el tratamiento recomendado por los médicos en el caso de padecerlas.

## 2.1 SÍNTOMAS GENERALES

Entre los síntomas comunes encontramos:

- ❖ Disuria
- ❖ Polaquiuria
- ❖ Prurito vulvar
- ❖ Dispareunia
- ❖ Leucorrea

Diagnóstico	Vagina Normal	Vulvovaginitis	Vaginosis
-------------	---------------	----------------	-----------

		por Candida	
Flora microbiana	<i>Lactobacillus spp.</i>	También otras levaduras	<i>Gardnerella vaginalis</i> , Mycoplasmas y anaerobios
Síntomas	Ninguno	Irritación y prurito vulvar, leucorrea.	Leucorrea maloliente y abundante.
Exudado vaginal	Claro o blanco flocular no homogéneo	Blanco en agregados adherentes	Blanco o grisáceo. Homogéneo.
pH del exudado	Menor a 4.5	Menor a 4.5	Mayor o igual a 4.5
Olor a aminas con KOH 10%	No	No	Siempre
Examen microscópico	Células epiteliales. Predominio de <i>Lactobacillus</i>	Leucocitos, células epiteliales, levaduras en el 80%	Células "clave". Escasos PMN. <i>Lactobacillus</i> . Flora mixta.
Tratamiento	No	Clotrimazol o Miconazol intravaginal, una semana	Metronidazol 5-7 días

Tabla No. 1 Características, Diagnóstico y Tratamiento de las Infecciones vaginales. Tomada de Latarjet, M. (2005).

## 2.2 DIAGNÓSTICO



Se fundamenta en la exploración y el estudio microbiológico del exudado vaginal y cervical, determinación de pH, examen microscópico en fresco, prueba de las aminas, tinción de Gram del exudado, cultivos de cérvix para *Chlamydia* y *Neisseria gonorrhoeae* y citología.

## **2.3 TIPOS DE INFECCIONES GINECOLOGICAS**

### **2.3.1 Vaginitis y vaginosis bacteriana**

La palabra “vaginitis” significa infección vaginal o una inflamación (irritación o hinchazón) del tejido vaginal. Es una de las infecciones de genitales más comunes en la consulta general o ginecológica, así como en clínicas de perinatología y de transmisión sexual. La vaginosis, se ha relacionado con riesgo de complicaciones durante la gestación y de parto pretérmino, y aumenta el riesgo de enfermedad inflamatoria pélvica. Es causada por *Trichomonas vaginalis*, *Candida* spp., generando una alteración de la flora vaginal habitual, provocando la desaparición o disminución de *Lactobacillus* spp., y un incremento de bacterias principalmente anaerobias como *Bacteroides* spp., *Mobiluncus* spp., *Peptostreptococcus* spp., en ocasiones por *Mycoplasma hominis* y *Gardnerella vaginalis*. (López, J. 2005)

La vaginitis causada por diversas especies de *Candida*, sobre todo *albicans*, produce una alteración de la flora vaginal con un sobrecrecimiento de estas levaduras lo que causa la infección. Actualmente se le concede gran importancia ya que se encuentra en relación directa con la enfermedad pélvica inflamatoria. (Barrenetxea, G. 2002).

Puede ser asintomática, aunque se puede presentar un exudado vaginal blanco-grisáceo y maloliente, existe irritación vaginal y vulvar, disuria, dispareunia o dolor abdominal, como observamos en la figura No. 4 en la cual apreciamos de forma concreta las características de este tipo de infección.

La prevalencia de vaginosis bacteriana se encuentra entre un 15 a 30% en mujeres en edad reproductiva. En México, un estudio realizado en mujeres de bajo riesgo reveló una prevalencia del 32%. (López, J. 2005).

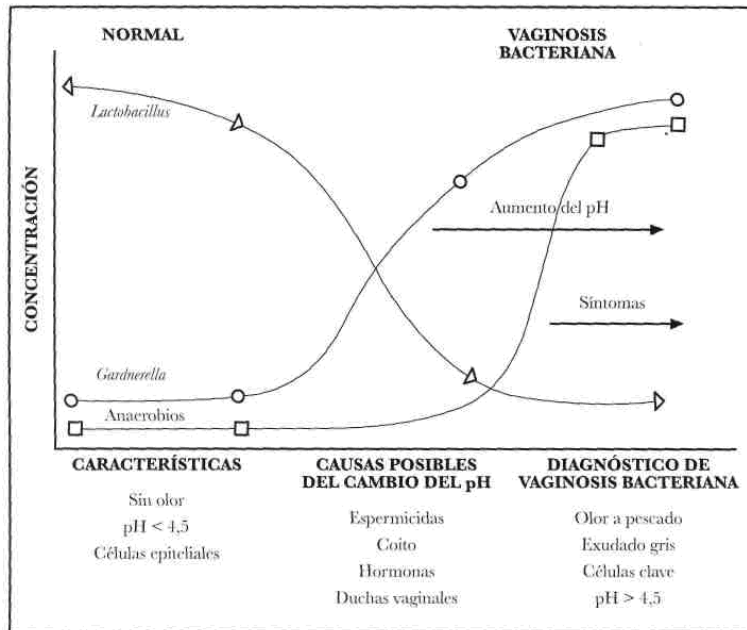


Fig. No. 4 Evolución de la flora bacteriana en mujeres normales y con vaginosis bacteriana. Características del exudado. Tomada de Latarjet, M. (2005)

### 2.3.2. Vulvovaginitis

La micosis vulvovaginal fue descrita por primera vez en 1949 por J. S. Wilkinson, al establecer una relación entre la existencia de hongos en la vagina y la aparición de una vaginitis. A partir de ese momento los conocimientos fueron evolucionando progresivamente. Actualmente hablamos de vaginitis (vulvovaginitis) micótica o por

hongos levaduriformes ya que no todas las vaginitis son causadas por especies pertenecientes al género *Candida*, como se muestra en la tabla No. 1; esta infección es un problema universal, que afecta a millones de mujeres en todo el mundo. (Barrenetxea, G. 2002)

Se refiere a una inflamación vulvar y vaginal, fisuras y presencia de un exudado adherente a la mucosa, blanquecino y amarillento, con grumos. El pH vaginal se mantiene en 4.5. Se diagnóstica en el 25% de mujeres que acuden a una consulta ginecológica, más de la mitad de los casos son de origen infeccioso causados por transmisión sexual, y los restantes se deben a otros factores como la diabetes, embarazo, uso de anticonceptivos orales, obesidad o utilización de glucocorticoides.

Se presenta de forma recurrente, grave, puede estar producida por *Candida glabrata*, *Tricomonas* y vaginosis bacteriana; también puede ser causada por otros microorganismos como *Herpes*, *Gonococo*. (López, J. 2005).

### **2.3.3. Cervicitis**

La cervicitis mucopurulenta, es el equivalente a la uretritis del varón; causada por *Chlamydia trachomatis*, microorganismo aislado con mayor frecuencia y que infecta el endocérvix, seguido de *Neisseria gonorrhoea* y *Trichomonas vaginalis*, los dos últimos producen una exocervicitis. (Ausina, V. 2006)

Para confirmar que existe esta infección, el exudado del cérvix es obtenido con una hisopo de algodón, tras una primera limpieza de la mucosidad, debe manchar de color amarillento o verdoso, una vez extendido en un portaobjetos visto al microscopio (x100) debe contener al menos 10 PMN por campo, en cinco campos no adyacentes observados de forma constitutiva.

### **2.4. ECTROPION**

También llamado ectopia, es la eversión del epitelio cilíndrico endocervical hacia el exocérvix, en condiciones normales, este tejido únicamente recubre el canal cervical, es decir, el interior del cérvix, y no su parte externa. Esta anomalía puede estar presente desde el nacimiento (en estos casos, tiende a curarse en la edad adulta) o aparecer después del parto.

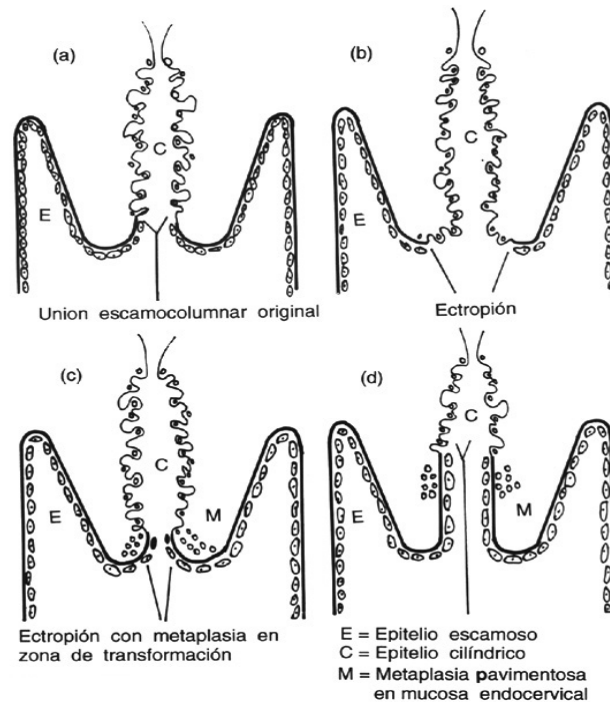


Figura No. 5 Dibujo del daño de ectropión. Tomada de Tortora, G. (2003)

Como se representa en la figura No. 5, observamos que (a) la unión escamosa del epitelio cuando no existe ningún daño, así como en el inciso (b), en el cual representa el daño provocado por ectropión, el cual mal cuidado se puede convertir en una metaplasma que cambia toda la anatomía original del cérvix, como se aprecia en los incisos (c) y (d).

Se presenta como una zona rojiza grande en el exocérnix, como se muestra en la figura No. 6, que rodea el orificio externo. La eversión del epitelio cilíndrico es más pronunciada en los bordes anterior y posterior del exocérnix y menos en los laterales, a veces, el epitelio cilíndrico se extiende hacia el fondo de saco vaginal.

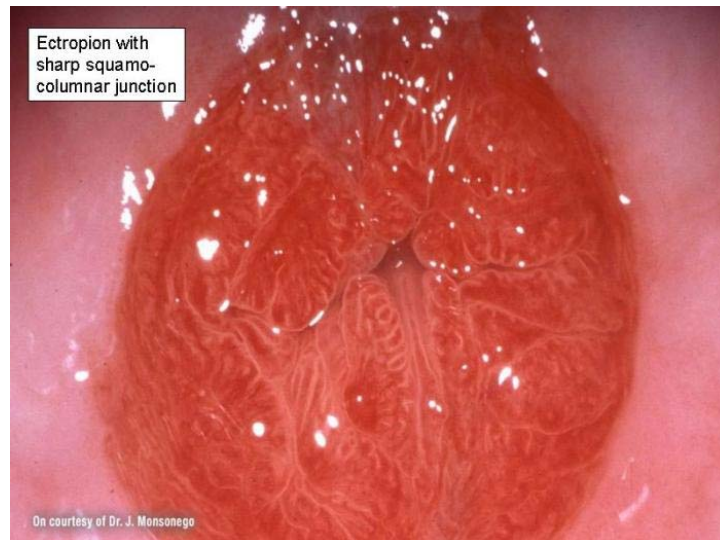


Fig. No. 6 Ectropión (Tomada de Ausina, 2006)

Se desplaza toda la mucosa, con inclusión de las criptas y el estroma subyacente. En esta zona se produce la transformación fisiológica a metaplasia escamosa, así como la transformación anormal en el cáncer cervicoutérino.

El único problema relacionado con la presencia del ectropión son las infecciones, que afectan con mayor frecuencia un cuello uterino alterado, debido a que se crea un desequilibrio en el interior del ecosistema vaginal y puede hacer que los microorganismos presentes en la vagina, que generalmente son inofensivos, proliferen de una manera anormal y se vuelvan agresivos. Aparte de que un cérvix con ectropión es más vulnerable a los agentes infecciosos, que pueden llegar a la vagina durante las relaciones sexuales.

#### **2.4.2. Tratamiento**

Sólo está indicado en aquellos casos en los que el ectropión provoque repetidas infecciones en el cérvix. Los métodos que se emplean en la actualidad para tratar este problema son:

❖ DIATERMOCOAGULACIÓN: Es el método más empleado. Se utiliza un aparato provisto de electrodos, que provocan una ligera descarga eléctrica. El electrodo se aplica directamente en el cuello del útero y puede ser de bola, de punta o de asa (circular o cuadrada). El médico escoge el tipo de electrodo de acuerdo con las características del ectropión. La



diatermocoagulación se efectúa en el consultorio, no requiere anestesia y sólo produce una ligera molestia.

- ❖ LÁSER: Emplea un rayo de luz láser que se dirige sobre el cérvix y quema el ectropión. Se hace localmente y no requiere anestesia. No es un método completamente eficaz para tratar este problema, pues la posición del cérvix no siempre permite que el haz de luz alcance la zona de una manera adecuada.
- ❖ LEEP: Se emplea un electrodo de asa de forma circular, más ancha que la utilizada para la diatermocoagulación, y el ectropión se extirpa por completo con un solo paso. Se recurre a esta técnica sólo en casos muy especiales (1-2%), cuando se descubren células que podrían degenerar en células atípicas.
- ❖ CRIOTERAPIA: Se aplica sobre el cérvix una pequeña cantidad de nitrógeno líquido, que actúa eliminando el tejido anómalo. Se practica en el consultorio, no requiere anestesia y sólo produce una ligera molestia.

### 3. FITOTERAPIA

La práctica de la Medicina Tradicional dio inicio en el momento mismo en que el hombre hizo uso de alguna parte de un vegetal, animal o mineral para contrarrestar sus padecimientos. Las plantas se usan para hacer medicinas, saborizantes o aceites aromáticos. A veces se usan las hojas, el tallo, las flores o las raíces. Algunas cualidades que hacen que las plantas sean benéficas para el tratamiento de diversas patologías. (Heinrich, M. 2004).

Es por esta razón que la fitoterapia, recomienda para el tratamiento de las infecciones vaginales y ectropión, el uso de preparados que contengan plantas con la finalidad de que sean:

- ❖ Antibióticas: ayudan a prevenir o eliminar la flora causante
- ❖ Antiinflamatorias: ayudan a disminuir la irritación

También el uso de otras que ayuden a incrementar la inmunidad, entre las plantas medicinales que se pueden emplear para estos preparados son el Ajo (con propiedad antifúngica y bactericida), la Equinacea (fortalece defensas y es antibiótico) y la *Caléndula officinalis* como

la más importante, debido a que presenta todas las características antes mencionadas. (Echemendia, C. 2006).

### **3.1. *Caléndula officinalis***

#### **3.1.1. Fitoquímica**

NOMBRE COMÚN: Caléndula, Maravilla, Reinita y Virreinita.

FAMILIA: Compuestas, Asteráceas

La palabra "Caléndula" viene del latín, de las *calendas* que designaban el primer día del mes. Ello se debe a que florece todos los meses del año, incluso en invierno, si éste no es muy frío. Los romanos, sin embargo, la llamaban *Solsequium*, que quiere decir "que sigue al sol" acción que realizan las flores de Caléndula al igual que los girasoles. Gehrman, B. (2005).

El botánico Dodoens escribía en 1578: "Tiene unas flores agradables, de color amarillo brillante, las cuales se cierran a la caída del sol y de nuevo se abren al alba". (Cechini, T. 2004)

Existe la *Caléndula arvensis* L. o Caléndula campestre asilvestrada que se distingue fácilmente por poseer unas flores más pequeñas y menor número de lígulas. Esta especie posee así mismo propiedades emanagogas, hipotensoras y vasodilatadoras. (Cetković, G. et.al. 2004).



Figura No. 7 Planta de Caléndula Tomada de Echemendia, C. (2006)

### 3.1.2. DESCRIPCIÓN GLOBAL

Planta herbácea anual. Altura: 20- 60 cm. Generalmente sin jugo lechoso. Las florecitas interiores del capítulo no tienen lígulas. (Duke, J. 2002).

#### ❖ Tallo, hojas y flores

Tallos robustos y ramificados. Hojas de color verde pálido, alternas con dientes callosos, acintadas de hasta 14 cm de largo. Hojas muy aromáticas o brácteas rara vez son espinosas. Estilo no engrosado ni peloso. Capítulos con flores hermafroditas. Todas las hojas son alternas o basales.



Los capítulos no son pequeños y no están agrupados en glomérulos. Sin escamas en el receptáculo. Con lígulas.

## Figura No. 8 Flor de Caléndula officinalis

Los frutillos más externos son muy arqueados o anulares y con el dorso espinoso. Lígulas a menudo de 2 cm. Flores con sabor algo amargo, de 3 a 6 cm de diámetro. Sus colores oscilan entre el intenso anaranjado y el brillante amarillo. Se cierran a media tarde. (Gehrmann, B. 2005).

❖ **Frutos:** Recurvados, casi anulares con espinas en su cara dorsal.

❖ **Hábitat:** Originaria del sur de Europa y de Oriente. Dispersa en todas partes, tanto en estado natural, como cultivada en baldíos y jardines. (Cechini, T. 2004).

### 3.1.3. Componentes importantes

❖ Calendulina (sustancia amarillenta de consistencia mucilaginosa)

#### 1. Flavonoides:

❖ Heterósidos de quercetol

❖ Heterósidos de isorhamnetol. (Duke, J. 2002).

2. Ésteres colesterinicos

- ❖ Derivados de los ácidos: Láurico, Mirístico, Palmítico, Margárico

3. Carotenoides (3%):

- ❖ Caroteno
- ❖ Flavocromo
- ❖ Mutatocromo
- ❖ Aurocromo
- ❖ Flavoxantina
- ❖ Crisantemaxantina
- ❖ Violaxantina
- ❖ Xantófilos (Bakó, E. et. al.2004)

4. Aceite esencial (0,4%):

- ❖ Pedunculatina
- ❖ Alfa y Beta iononas trans cariofileno.
- ❖ Geranilo Lactona.
- ❖ n-tricosamina.
- ❖ Alcoholes terpénicos
- ❖ Lactona

5. Otros

- ❖ Agua (10%)
- ❖ Azúcares
- ❖ Albúmina
- ❖ Políinas
- ❖ Resinas
- ❖ Gomas (2,5%)

- ❖ Ácidos orgánicos (ácido salicílico)
- ❖ Materias minerales (10%)
- ❖ Sales de manganeso
- ❖ Ácido oleoico
- ❖ Taninos (Hamburger, M. et. al.2003)



### 3.2. USOS

- ❖ TISANAS: Uso antidismenorreico y emenagogo.
- ❖ TINTURAS: Uso interno: (1:10): 40 - 60 gotas, tres veces al día. Uso externo:(1:10) diluida al 25% en agua para lavados o se aplica con compresas. Para el eczema, tomar 30 gotas con agua tres veces al día.
- ❖ ACEITES: Sin lugar a dudas uno de los mejores y más populares remedios caseros. Se trata simplemente de macerar flores de Caléndula en aceite de oliva preferentemente y ponerlo dentro de un recipiente hermético de cristal, a sol y serena, durante 40 días.
- ❖ OTROS: Ungüento para quemaduras leves, aplicar hasta tres veces al día. Infusión para infecciones crónicas producidas por hongos, por ejemplo tiña o afta, beber una taza tres veces al día. Una cucharadita de postre por taza. Infundir 15 minutos, tomar una taza antes de las comidas. Para tratar las dismenorreas, se empieza a tomar quince días antes de la menstruación. Extracto fluido (1:1): 20 a 30 gotas, dos o tres veces al día. De cocción: 60 - 80 g/l. Aplicar en forma de lavados.

#### **4. FORMAS DE ADMINISTRACIÓN VAGINAL**

Desde la antigüedad y por mucho tiempo, los supositorios y óvulos fueron las formas utilizadas para la administración de sustancias medicamentosas por vía rectal y vaginal. Los excipientes utilizados para la preparación de estas formas farmacéuticas son las mismas y el método de preparación es análogo; sin embargo en la actualidad existen, otras formas diferentes, también de consistencia sólida o semisólida y líquida que también son empleadas.

La administración de medicamentos por vía vaginal se remonta a tiempos muy antiguos, el uso de esta vía persigue conseguir efectos locales: solo en casos excepcionales se utilizan fármacos destinados a ejercer efectos sistémicos. (Palapop, R. 2003).

Existen varios tipos de preparaciones vaginales como:

- a. Óvulos
- b. Comprimidos vaginales
- c. Cápsulas vaginales
- d. Disoluciones, emulsiones y suspensiones vaginales
- e. Espumas vaginales
- f. Tampones vaginales medicamentosos
- g. Comprimido para disoluciones suspensiones

h. Pomadas (Palapop, R. 2003).

#### **4.1. DEFINICIÓN**

Los óvulos son preparaciones sólidas unidosis, su forma es variable, generalmente ovoide; pueden contener uno o más principios activos dispersados o disueltos en la base, la cual es soluble o dispersable en agua. Su forma, volumen y consistencia deben ser adecuados para facilitar su administración, la masa del óvulo es de 1 a 15g.

#### **4.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES**

##### **4.2.1. Excipientes**

Los excipientes utilizados en la preparación tienen que ser adecuados para que la forma farmacéutica se funda a 37 °C, además debe cumplir con una serie de propiedades como:

- a) Ser inocuo y bien tolerado por la mucosa vaginal.
- b) Inerte frente a los fármacos que se les incorporan y al mismo tiempo debe ser estable frente a la acción de agentes externos.

- c) Su consistencia no debe ser ni muy blanda ni muy rígida.
- d) Presentar poder de retracción al enfriarse para facilitar el vaciado del molde.
- e) Debe permitir la liberación rápida completa.

#### 4.2.1.1. Clasificación de los excipientes

Para la preparación se emplean dos tipos de excipientes como se muestra en la tabla No. 2, donde apreciamos las características que estos presentan y ejemplos de los mismos.

Tabla No. 2 Clasificación de excipientes para la elaboración de óvulos.

Excipiente	Características	Ejemplos
Lipofílico	Más utilizado Acción emoliente Forman película hidrófoba protectora de la mucosa.	Manteca de cacao. Aceites hidrogenados. Aceites hidrogenados dispersables en agua.
Hidrofílico	No presenta problemas de conservación Irritación de la mucosa	A base de glicerina-gelatina. Polietilenglicoles.

El excipiente utilizado en la producción de los óvulos es a base de glicero-gelatina, los cuales son una mezcla de estas: la gelatina es obtenida por hidrólisis parcial del

colágeno animal, es una sustancia anfótera, incompatible con fármacos del tipo iónico. Este tipo de excipientes son adecuados en una concentración de 70% de glicerina, 14% gelatina, aunque puede aumentarse la proporción de esta última.

#### **4.2.2. Elaboración**

Son óvulos que se preparan primero disolviendo la gelatina en la mezcla glicerina-agua las cuales se encuentran a una temperatura de 30°C, y luego se le añade la masa medicamentosa la cual se agita hasta su disolución completa. Después esta mezcla se vierte en moldes apropiados y el óvulo solidifica por enfriamiento.

#### **4.3. Ensayos**

Dada la variedad de excipientes disponibles para la elaboración de los óvulos, es necesario realizar determinaciones físicas y químicas.

Dentro de estos ensayos encontramos:

- a) Uniformidad de masa: Pesar individualmente 10 óvulos y determinar la masa media.

b) Disolución: Se utiliza para determinar la velocidad de disolución de los principios activos de formas sólidas. Para cada preparación se debe tomar en cuenta lo siguiente:

1. Aparato a emplear
2. Composición, volumen y temperatura del medio de disolución
3. Velocidad de rotación o flujo del medio de disolución
4. Intervalo de tiempo, sistema y volumen de cada toma de muestra de la disolución sometida a examen o las condiciones de monitorización continua.
5. Método de análisis

c) Disgregación: Destinado a determinar la mayor o menor aptitud de los óvulos a reblandecerse o disgregarse, en medio líquido, en el tiempo indicado. La disgregación se considera alcanzada cuando:

1. La disolución es completa.
2. Los componentes del óvulos se separan
3. Se produce un reblandecimiento, acompañado eventualmente de una modificación de la forma primitiva del óvulo.

# Objetivos

## OBJETIVO GENERAL

Elaboración de una forma farmacéutica sólida (óvulo) con extracto de *Caléndula officinalis* para el tratamiento de ectropión e infecciones vaginales en mujeres.



## OBJETIVOS PARTICULARES

- a) Diseñar la formulación de la presentación farmacéutica para su aplicación in vivo.
  
- b) Identificar los factores que influyen en la calidad de los óvulos (aspecto físico, disolución, etc.)
  
- c) Realizar pruebas in-vitro a los óvulos sobre su efecto en bacterias y levaduras causantes de infecciones vaginales.

**Material**

**y**

**Equipo**

## 5. MATERIAL Y EQUIPO

### 5.1 Material.

- ❖ Frasco vial de 5 Lt.
- ❖ Embudo de filtración de plástico.
- ❖ Papel filtro Wathman poro mediano.
- ❖ 3 Matraz Erlenmeyer de 1 Lt marca Pyrex.
- ❖ 2 Membranas de filtración Millipore de 0.45  $\mu$ .
- ❖ Cristalizador marca Pyrex.
- ❖ 4 Cajas Petri marca Kimax.
- ❖ 1 Vaso de precipitado 1 Lt.
- ❖ 2 Matraz Erlenmeyer de 250 mL marca Pyrex.
- ❖ 3 Vasos de precipitado de 250 mL marca Pyrex.
- ❖ Probeta de 250 mL marca Pyrex.
- ❖ 2 Vial de 20 mL capacidad.
- ❖ 2 Espátulas.
- ❖ Molde para óvulos marca Erweka Modelo 139-07.
- ❖ 5 Barras magnéticas de diferentes tamaños.
- ❖ Papel aluminio.
- ❖ 4 Matraz aforado de 25 mL marca Pyrex.
- ❖ 4 Tubos de ensaye.
- ❖ 4 Vasos de precipitado de 50 mL marca Pyrex.
- ❖ 17 Tubos de ensaye grandes.
- ❖ 3 Gradillas.
- ❖ Algodón.

- ❖ Gasa.
- ❖ Papel periódico.
- ❖ Pipeta graduada de 10 mL marca Kimax.
- ❖ Asa bacteriológica.
- ❖ Mechero Bunsen.
- ❖ 6 Viales de 60 mL de capacidad.
- ❖ 3 Pipetas volumétricas de 2 mL marca Kimax.
- ❖ 1 Vaso de precipitado de 100 mL.
- ❖ 60 Tubos de ensaye marca Kimax.
- ❖ Vidrio de reloj marca Kimax.

## **5.2 Reactivos**

- ❖ Brij
- ❖ Poloxamero
- ❖ Glicerina QP
- ❖ Gelatina grado USP
- ❖ Caldo de cultivo Mueller- Hilton
- ❖ Agar BBL

## **5.3 Equipo**

- ❖ Campana de flujo laminar Marca VECO
- ❖ Espectrofotometro UV-VIS. Cary 50 Conc. Marca Varian.

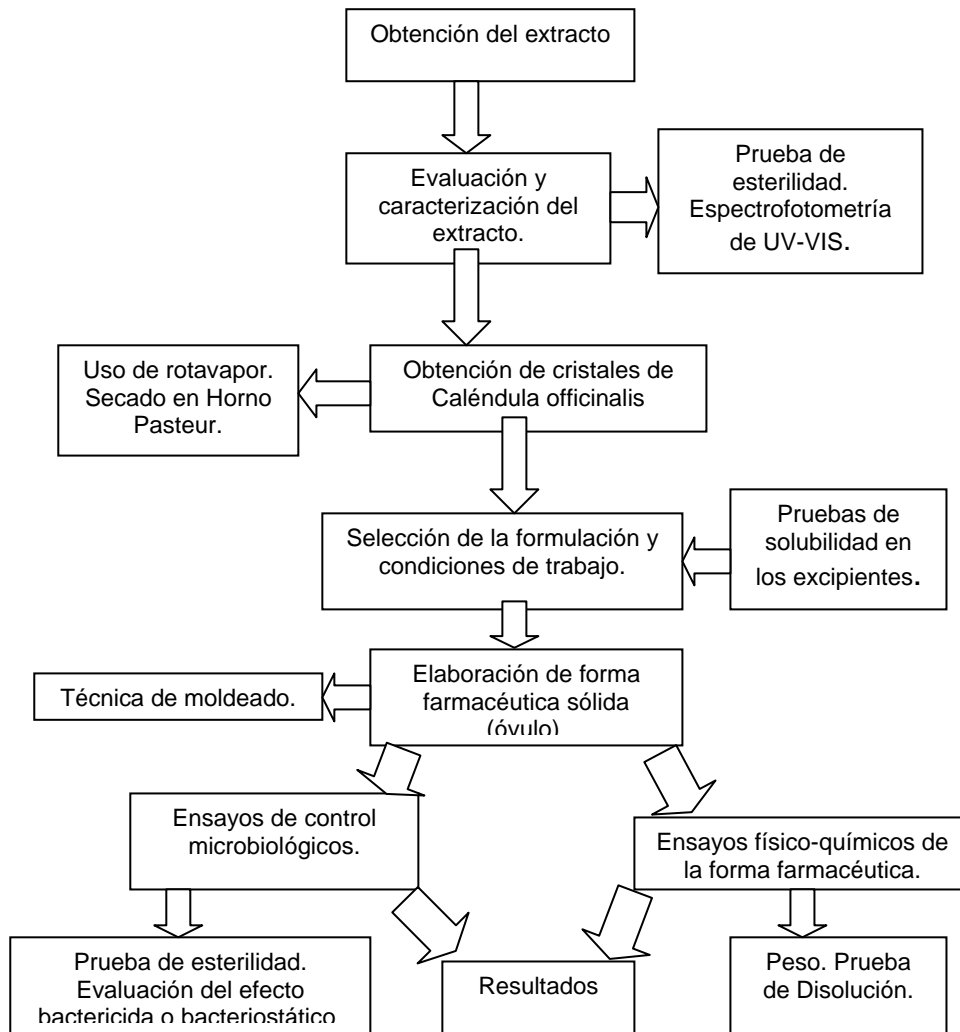
- ❖ Disolutor
- ❖ Autoclave
- ❖ Horno Pasteur Rios S.A. Modelo HS-41
- ❖ Estufa Bacteriológica Rios Rocha S.A.

#### **5.4. Bacterias**

- ❖ *Escherichia coli*
- ❖ *Cândida albicans*
- ❖ *Enterococos*
- ❖ *Staphylococcus aureus*

# **Diagrama de Trabajo**

#### 5.4. PLAN DE TRABAJO



## **5.5. METODOLOGÍA**

### **5.5.1. Elaboración del extracto**

1. Comprar las plantas de *Caléndula officinalis*, en el mercado de Sonora.
2. Retirar los pétalos de las flores, y secarlos.
3. Pesar 10g de pétalos secos por cada litro de alcohol etílico, al 70%.
4. Preparar un volumen de extracto igual a 5Lt.
5. Colocar la mezcla en frasco vial color ámbar.
6. Agitar tres veces por día la mezcla, durante dos días.
7. Filtrar utilizando papel filtro para eliminación de pétalos.
8. El filtrado anterior filtrarlo en condiciones de esterilidad, empleando una membrana Millipore de 0.45 Y 0.22 $\mu$  con el equipo correspondiente y en la campana de flujo laminar.
9. Guardar en frascos color ámbar estéril.

### **5.5.2. Prueba de esterilidad del extracto etanólico.**

1. Preparar medio BHI para la prueba de esterilidad.
2. Utilizando un hisopo estéril, introducirlo en el extracto etanólico para que se humedezca.
3. Realizar un sembrado masivo en el agar BHI.



4. Incubar en la estufa bacteriológica a 37°C por 24-48hrs.
5. Revisar las cajas con el agar BHI a las 24hrs y a las 48hrs.

### **5.5.3. Obtención de extracto seco**

1. Colocar en rotavapor los 5lt preparados de extracto.
2. Esterilizar el cristalizador
3. Empleando la campana de flujo realizar el vaciado del extracto en el cristalizador.
4. Colocar el cristalizador en el Horno Pasteur a una temperatura no mayor de 45°C. hasta la sequedad del extracto.
5. Esterilizar el área de trabajo con benzal y prender un mechero.
6. Seco el extracto, con una espátula estéril, realizar el raspado del cristalizador, en condiciones de esterilidad.
7. Obtener el extracto seco en frascos viales ámbar estéril.
8. Rotular los frascos.

#### **5.5.4. Caracterización del extracto de *Caléndula officinalis* por espectroscopia UV-VIS.**

1. Pesar exactamente 225 $\mu$ g de extracto seco y disolverlos en 5mL de agua.
2. Filtrar empleando membranas Millipore de 0.22  $\mu$  estéril.
3. El filtrado aforarlo a 25mL con agua.
4. Leer en el espectrofotómetro de UV-VIS en un rango de  $\lambda=200-500$  para observar la longitud de onda donde se presenta la máxima absorción del extracto de *Caléndula officinalis*.
5. Registrar su máxima absorbancia en las  $\lambda=255$  y 335
6. Realizar el procedimiento anterior pero ahora utilizando: cloroformo, alcohol etílico y solución hidroalcohólica (50:50).

#### **5.5.5. Elaboración del lote de óvulos a base de glicero-gelatina**

Los óvulos de glicero-gelatina se preparan de acuerdo con la formulación siguiente:

Glicerina .....	60%
Gelatina.....	10%
Agua destilada.....	30%

*Caléndula officinalis* extracto seco..... 100mg

1. Se preparan dos lotes de 50 óvulos cada uno.
2. Mezclar glicero-gelatina-agua equivalente a 730g de mezcla, en una proporción (10:60:30).
3. Mezclar en su totalidad la gelatina con la mitad de volumen de glicerina y el agua. Agitar hasta disolución de la gelatina.
4. Esterilizar la mezcla anterior a 10lb/10min en la autoclave y la glicerina sobrante.
5. En la campana de flujo laminar, agregar a la mezcla el extracto seco de *Caléndula officinalis* y añadir el sobrante de glicerina.
6. Calentando y agitando suavemente para evitar la formación de burbujas, hasta la disolución.
7. Preparada la mezcla realizar el vaciado en el molde para óvulos previamente esterilizado, esperar a la gelificación.
8. Obtener la masa ovular empleando espátula y pinzas estériles.
9. Colocar cada óvulo en papel aluminio estéril y envolver.
10. Depositar 10 óvulos envueltos en un frasco vial hexagonal estéril.
11. Guardar el frasco en refrigeración.

#### **5.5.6. Pruebas de esterilidad del lote de óvulos.**

1. Preparar Caldo Mueller-Hilton.
2. En 7 tubos grandes a cada uno añadirle 10mL.
3. Esterilizarlos a 121°C/15lb.
4. Utilizar 3 tubos para el primer lote y 3 para el segundo lote
5. Emplear un tubo como control negativo.
6. Colocarles 1 óvulo a cada tubo
7. Incubar a 37°C en la estufa bacteriológica por 24hrs.
8. Revisar los tubos.

#### **5.5.7. Prueba de inhibición de crecimiento bacteriano.**

1. Preparar el Caldo Mueller-Hilton.
2. En 8 tubos grandes a cada uno añadirle 10mL.
3. Esterilizarlos a 121°C/15lb.
4. Sembrar las siguientes bacterias empleando 2 tubos para cada una, ajustando al 0.5 de Mac Farland.
  - ❖ *Candida albicans*
  - ❖ *Staphylococcus aureus*
  - ❖ *Enterococos*
  - ❖ *Escherichia coli*
5. Usar un tubo como control positivo de crecimiento para cada bacteria.

6. Un segundo tubo con bacteria se le añadirá un óvulo según corresponda.
7. Incubar a 37°C por 24hrs.
8. Realizar una lectura visual, para analizar la turbidez o nitidez de cada tubo.
9. Revisar la existencia de crecimiento bacteriano, empleando la reacción del MTT para realizar la lectura.
10. Observar la coloración morada para el crecimiento positivo.

#### **5.5.8. Prueba de efecto bactericida-bacteriostático**

1. Tomar una asada de cada tubo que contiene óvulo y sembrarlo en agar BBL.
2. Incubar 24hrs a 37°C
3. Revisar las placas para determinar tipo de efecto bactericida o bacteriostático, de acuerdo al crecimiento de las bacterias.

#### **5.5.9. ENSAYOS PARA LA FORMA FARMACÉUTICA.**

##### **a) Uniformidad de peso**

1. Tomar una muestra aleatoria de 10 óvulos

2. Pesar individualmente cada óvulo
3. Registrar el peso de cada uno
4. Promediar el peso de las muestras
5. Anotar el peso promedio

**b) Perfil de disolución**

1. Se emplearan 6 óvulos como muestra
2. En 6 frascos viales colocar en cada uno 15mL de una solución de Poloxamero al 3% (P/P)
3. Colocarlos en baño de agua a 37°C en movimiento
4. Añadirle a cada uno un óvulo (tiempo cero)
5. Tomar cada 4 minutos 2mL de muestra de cada vial y colocarlo en tubos rotulados
6. Agregarle a cada vial 2mL de Poloxamero nuevo
7. Seguir esta metodología hasta un tiempo de 2:30h.

**c) Determinación de la concentración de extracto**

1. De los tubos utilizados tomar una alícuota de 1mL
2. Verter cada alícuota en el tubo correspondiente
3. Aforar cada tubo con 5mL de poloxamero al 3%
4. Agitar los tubos
5. Leer en el espectrofotómetro UV-VIS
6. Registrar las lecturas de absorbancia a  $\lambda=235$  y 355nm

7. Calcular las concentraciones en mg de extracto presente utilizando la curva de calibración.
8. Corregir el efecto de dilución para obtener la concentración exacta a partir de un método estadístico.
9. Graficar el tiempo de disolución contra la concentración en mg de extracto.

# Resultados



## 6. RESULTADOS

El extracto etanólico de *Caléndula officinalis* fue elaborado y filtrado con membranas de 0.45-0.22 $\mu$ m para verificar esterilidad. En la prueba de esterilidad realizada en el medio de BHI, en el cual sembramos el extracto, los resultados obtenidos fueron positivos, no hubo desarrollo de crecimiento bacteriano.

La caracterización del extracto seco obtenido de *Caléndula officinalis* se realizó empleando la espectroscopia UV-VIS, en donde obtuvimos el espectro que se presenta en la figura No. 9.

El uso de estos disolventes, ayuda a poder obtener la mayoría de los componentes que tiene la planta, en la solución acuosa encontramos los que son más polares o hidrosolubles, en el extracto hidroalcohólico obtenemos los flavonoides y terpenoides, con el preparado etanólico podemos extraer la gama de compuestos hidrosolubles hasta los liposolubles, y en la solución clorofórmica se localizan los componentes no polares o liposolubles. (Morales, M. 2002).

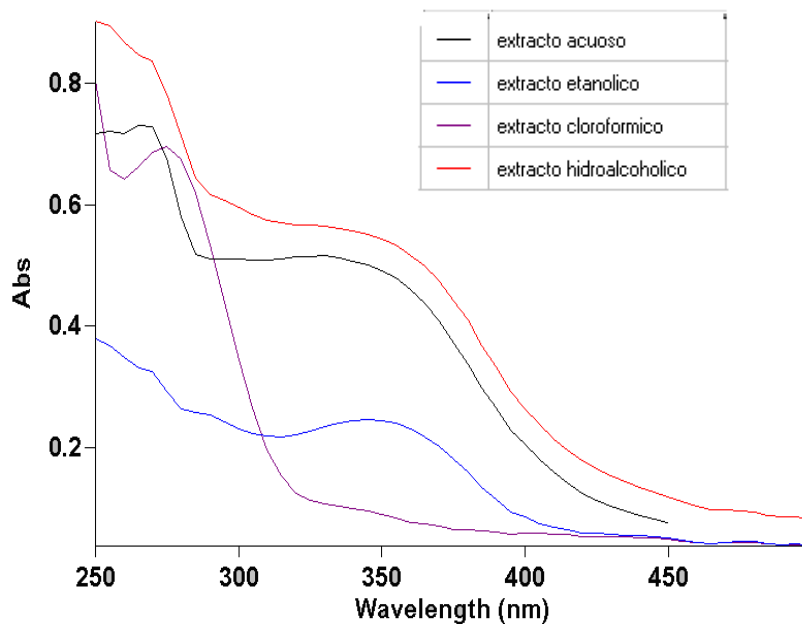


Figura No. 9 Espectro de UV-VIS de las disoluciones del extracto.

El espectro de absorción fue obtenido en un rango de longitud de onda de 200 a 500nm, valores en los cuales la mayoría de los componentes que presentan las propiedades curativas de la planta *Caléndula officinalis* absorben la luz Visible o Ultra Violeta.

El extracto seco de *Caléndula officinalis*, se empleó en la elaboración de los óvulos, (Figura No. 10) los excipientes utilizados para este procedimiento fueron la glicerina y

gelatina, por el método de moldeado, explicado en la parte de metodología.



Figura No. 10 Forma farmacéutica (óvulos).

En el ensayo microbiológico que es la prueba de esterilidad para los dos lotes de la forma farmacéutica, en ambos obtuvimos resultados negativos para el crecimiento de microorganismos que fueran contaminación del material empleado o de la mezcla de glicerina-gelatina. Para cada lote se usaron 3 muestras. Así como se muestra en las figuras No. 11 y 12, donde se aprecian los resultados de la misma.

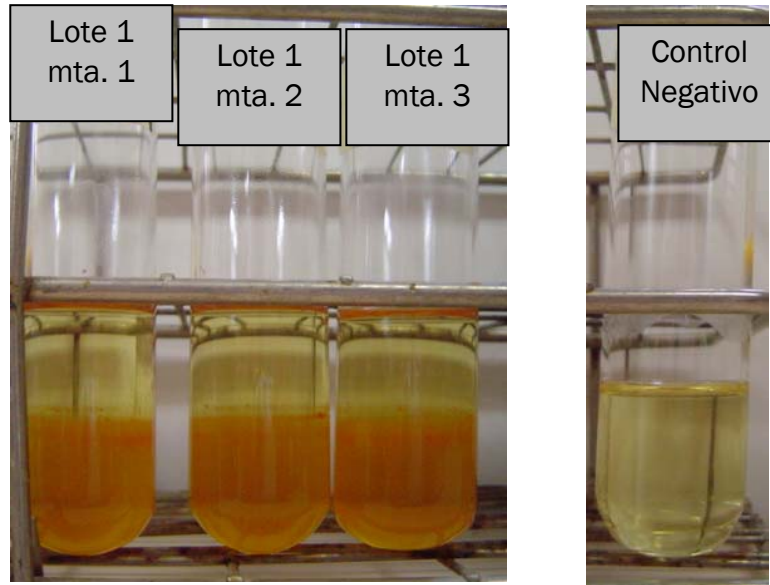


Figura No. 11 Prueba de esterilidad del Lote 1

Esta prueba es un factor importante en el control de calidad de la forma farmacéutica, ya que la presencia de microorganismos como lo son los hongos, bacterias o levaduras, ocasionan una serie de problemas, por ejemplo: cambios en la coloración, olor y consistencia, y el más importante daños al paciente.

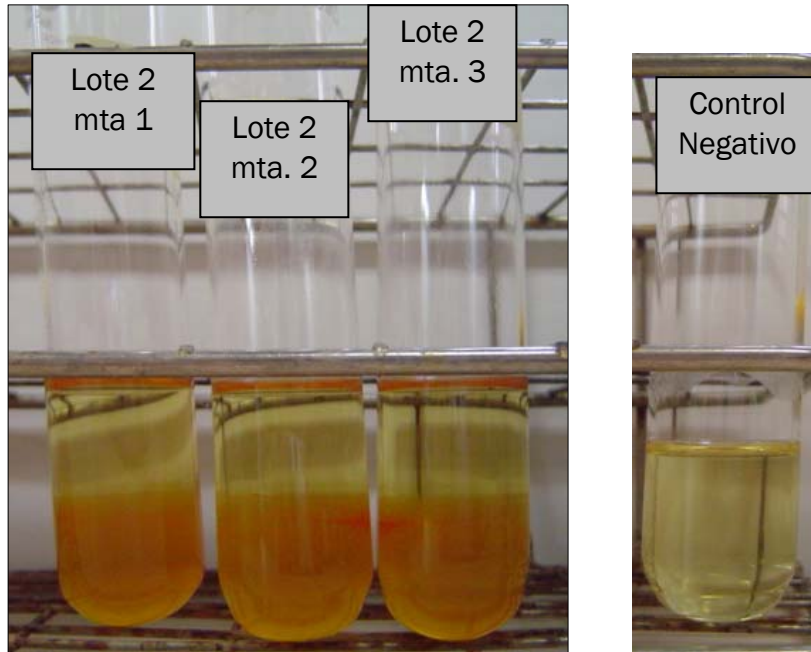


Figura No. 12. Prueba de esterilidad de Lote 2

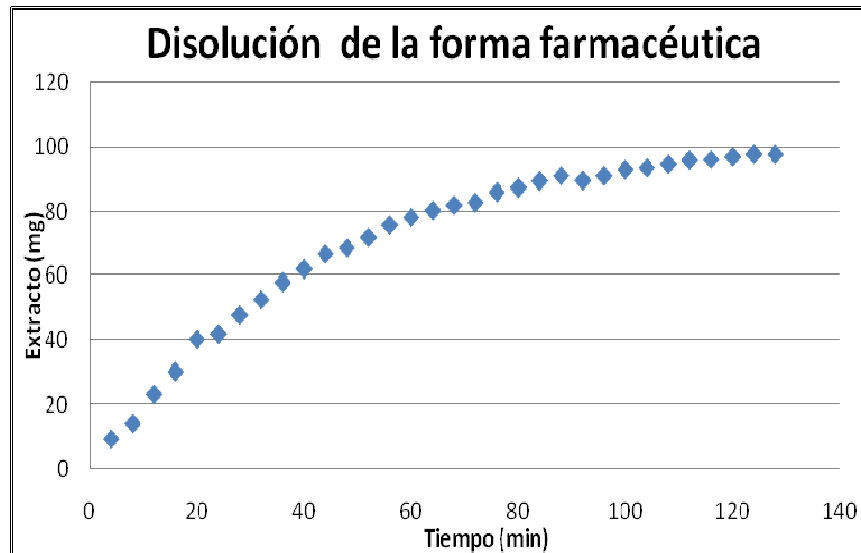
A la forma farmacéutica se le realizaron diferentes pruebas, dentro de las cuales encontramos la uniformidad de peso, donde se obtuvieron los resultados que se observan en la tabla No. 3.

Tabla No. 3 Prueba de Uniformidad de peso (g)

Número de óvulo	Lote 1	Lote 2
1	5.7316	5.7171
2	5.7780	5.7345
3	5.7912	5.7544
4	5.7451	5.8366
5	5.7966	5.7459
6	5.7895	5.7402
7	5.8446	5.7137
8	5.7255	5.7463
9	5.7855	5.7317
10	5.6950	5.7601
Promedio	5.7683	5.7480

La evaluación de la disolución, es una prueba de calidad *in-vitro*, la cual proporciona información sobre el comportamiento de la forma farmacéutica *in-vivo*. En la información obtenida a partir de esta determinación, encontramos que el tiempo total de disolución es 120min (2hrs), en los que todo el contenido activo se libera; para lo cual empleamos el Poloxamero 3% como medio de disolución, surfactante que disuelve en más del 95% el extracto seco de *Caléndula officinalis*.

Se realizó la gráfica del promedio de las seis determinaciones, con los que obtuvimos la gráfica que se observa, la que demuestra que cada óvulo en esta prueba libera 97.46 mg de extracto. Por lo que cumple con las perspectivas de liberación de contenido el cual es 100mg disueltos en los excipientes.



Gráfica. 1 Disolución de la forma farmacéutica.

La liberación del extracto es gradual respecto al tiempo, y cuando han transcurrido 120 minutos (2hrs) se libera la mayor concentración de todos los principios activos que contiene el extracto.

Para la prueba del MTT, se emplearon los tubos que contienen el caldo Mueller-Hinton con la bacteria como controles positivos y a los que se les añadió el óvulo, para esta se utiliza una microplaca de pozos con fondo plano, en la que colocamos una alícuota de cada tubo antes mencionado y le añadimos 5 $\mu$ L de MTT; esta prueba se fundamenta en el uso de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-y-l)-2,5 difeniltetrazolio (MTT) como indicador, que detecta crecimiento y viabilidad celular.

El MTT es un reactivo de óxido-reducción que en condiciones de disminución de la concentración de oxígeno, como las generadas durante la actividad metabólica bacteriana, cambia de color: del amarillo (estado oxidado) al púrpura (estado reducido). Al reducirse, su solubilidad en medio acuoso disminuye y se produce la precipitación de cristales del reactivo. Esta técnica, permite la lectura visual de la reacción, de esta forma se determina si el extracto de *Caléndula officinalis* inhibe el crecimiento bacteriano.

El resultado obtenido en la prueba es el siguiente:



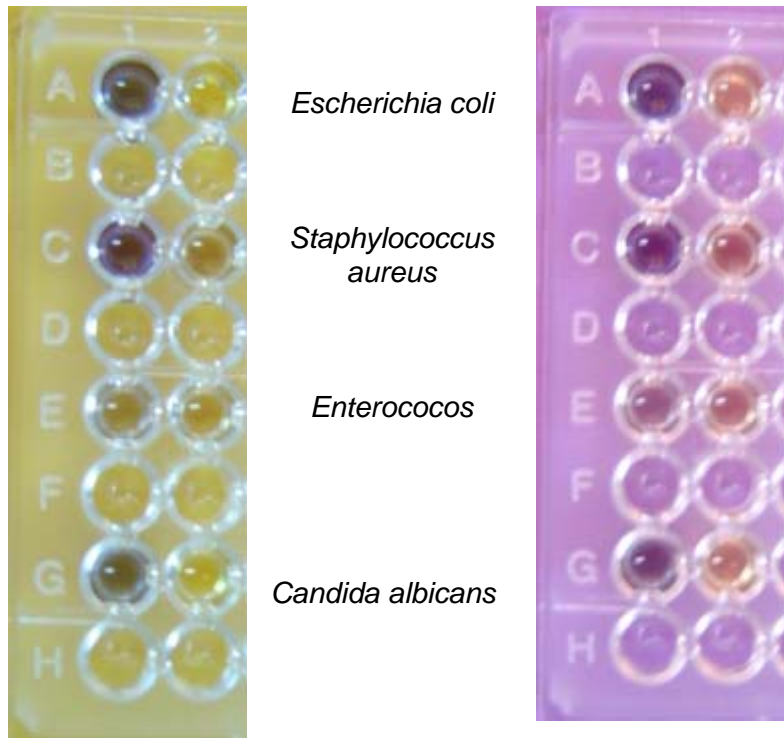


Figura No. 13. Resultado de la prueba de MTT.  
 No. 1 Tubo control, No. 2 Tubo que contiene bacteria en presencia del óvulo. A) *Escherichia coli*, C) *Staphylococcus aureus*, E) *Enterococos*. G) *Candida albicans*.

En las cuales se demuestra que para las bacterias *Candida albicans* y *Escherichia coli* no crecieron en

contacto con el extracto de *Caléndula officinalis*, para *Enterococos* y *Staphylococcus aureus* estas si presentan un crecimiento.

Para el estudio del efecto antimicrobiano, tomamos una asada de las bacterias presentes en los tubos con la forma farmacéutica, y la sembramos en Base de Agar Sangre, durante el periodo de incubación de 24hr a 48 hr, al finalizar este, encontramos los siguientes resultados, que se observan en la figura No. 13, observamos que la enterobacteria *Escherichia coli*, en contacto con el extracto de *Caléndula officinalis*, no manifiesta crecimiento, en comparación con el control positivo, en lo que respecta a *Staphylococcus aureus*, que se encuentra en la misma placa esta bacteria si presentó un crecimiento, aunque disminuido en comparación con su control positivo.

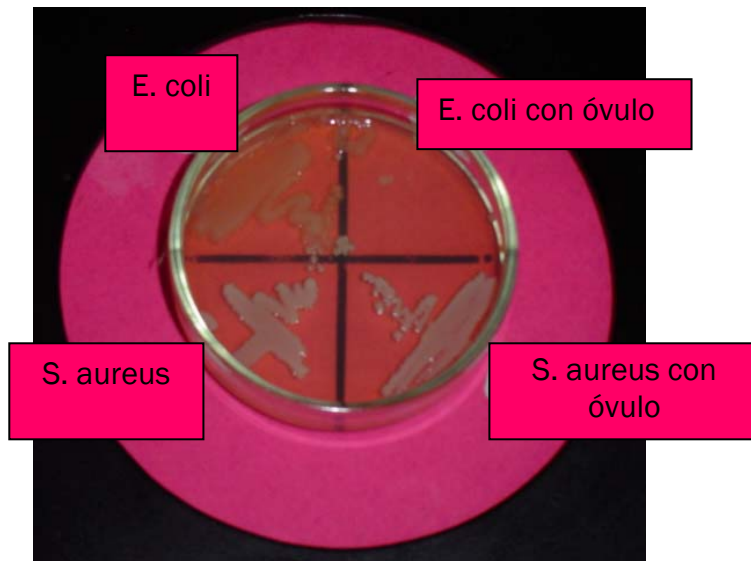


Figura No. 14 Placa BAB número 1 con *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

Para las bacterias *Candida albicans* y *Enterococos*, si presentan crecimiento, como se representa en la figura No. 14, lo que indica que el efecto del extracto solo es bacteriostático, ya que se manifiesta una disminución de crecimiento en comparación con los controles positivo.

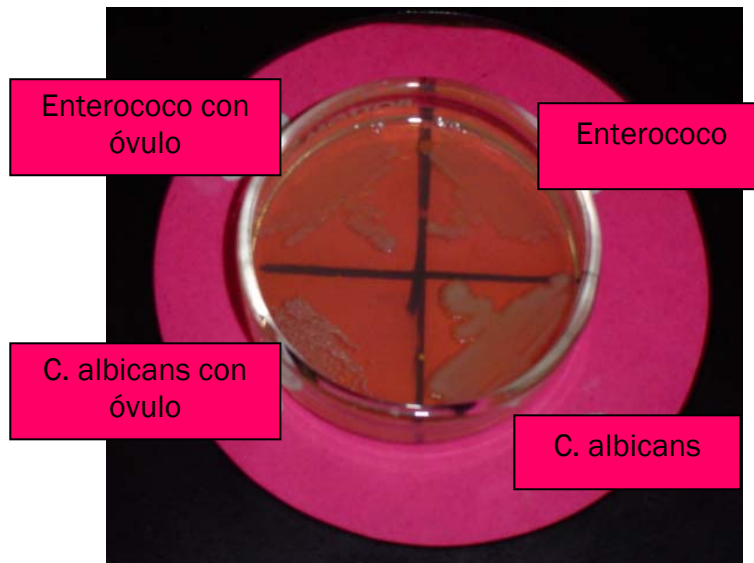


Figura No. 15 Placa BAB número 2 con *Candida albicans* y *Enterococo*

# Discusión

## 7. DISCUSIÓN

El análisis histórico de las culturas antiguas muestran una riqueza en el uso de fitomedicamentos como agentes curativos y para favorecer la vitalidad y la salud en general, algunos de estos productos se utilizan bajo la premisa de que actúan como antimicrobianos; sin embargo, un buen número de ellos y de sus constituyentes químicos han sido poco investigados desde la perspectiva de los mecanismos de acción moleculares.

La fitoterapia constituye una herramienta terapéutica más, dentro de todo el abanico de posibilidades que nos brinda la Terapéutica actual. Para que esta herramienta sea realmente útil, es necesario hacer uso racional de la misma, basado en una utilización apropiada de los preparados a base de plantas medicinales, los cuales deben tener calidad, seguridad y eficacia garantizada, de información rigurosa y fiable, elaborada con espíritu crítico, así como de oportunidades de formación adecuada en este campo.

Una planta que cumple con estas características es *Caléndula officinalis*, la cual es una planta medicinal,

empleada como cicatrizante, inmunoestimulante, antiinflamatoria, antifúngico y antimicrobiano, es por ello que se emplea en este trabajo de experimentación; no existe problema en la recolección de la misma, debido a que florece todo el año, principalmente en el mes de abril y mayo, aunque es dependiente de la fecha de siembra la obtención de las flores.

Por esta razón, se decidió trabajar con ella, la cual fue comprada en el mes de abril, la desecación de los capítulos de esta se realizó, el mismo día de la compra, para poder evitar la autodegradación enzimática, la cual según Willis, B. (1998), menciona que esta es causada por un incremento en la respiración, síntesis de etileno, lo que causa el cambio de color. Estos cambios están asociados al incremento de radicales libres, enzimas antioxidantes y a la síntesis de proteasas. (Torre, S. 1999); durante esta etapa se reduce el contenido de azúcares, proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares, incrementándose la actividad de las proteasas. (Breeze, E. 2004). Finkel, T. (2000) menciona que los cambios en el color natural de las flores es debida al aumento en la generación de especies reactivas del oxígeno (EROs), superóxido ( $O_2^-$ ), radicales hidróxilo (OH $\cdot$ ), peróxido de Hidrógeno ( $H_2 O_2$ ), que en

exceso promueven condiciones de estrés oxidativo, en el caso de *Caléndula officinalis*, no importa la fecha de plantación y recolección de las flores, en el contenido de sus principios activos, lo cual se puede comprobar en los diferentes trabajos realizados en los que emplean esta planta, en los cuales la han recolectado en Junio, Mayo y Marzo, meses en los que es conveniente su recolección, debido a que principalmente se siembra en los meses de Noviembre y Diciembre, por ello no fue difícil conseguirla.

Con lo que respecta a la forma de almacenamiento de los capítulos es importante, porque si son almacenados en sacos de polietileno conlleva una pérdida del 28-30 % de los carotenoides y del 24-26 % de los flavonoides. (Lastra, H. 1999). La forma de secado de los mismos, también influye en el contenido de los principios activos, por lo que se puede realizar en local bien aireado, a la sombra, extendiéndose de esta forma el período de secado de 7 a 10 días; al sol, lo que demora 4 ó 5 días y con calor artificial, en estufas de aire recirculado, a temperatura de 40 °C, donde se seca en sólo 2 ó 3 días. Se ha demostrado desde el punto de vista farmacognóstico que la forma de secado no produce cambios significativos, ni tampoco incide sobre la presencia de los metabolitos secundarios. (García, D.



1996). Nosotros empleamos el secado a la sombra de los capítulos y a una temperatura de 25°C, que es temperatura ambiente, el tiempo de secado fue durante 2 días, lo que concuerda con las referencias revisadas.

Para la extracción de los principios activos, empleamos alcohol etílico al 70 %, la elección de este disolvente, fue en base a lo reportado por Morales, M (2002) en el cual han demostrado que el empleo del mismo tiene la propiedad de bactericida y se extraen la mayor cantidad de principios activos de esta planta medicinal, para el secado la temperatura empleada de 42°C, está fue apropiada, por que temperaturas mayores a los 70°C tienden a reducir la concentración de los principios activos. (Lastra, H. 1999), pero el procedimiento es muy tardado, debido a que se tiene que pasar por rotavapor y de un volumen igual a 1 litro, obtenemos solo la mitad, esta metodología es favorable para nosotros, ya que recuperamos el disolvente empleado y no se contamina el ambiente, y para el secado del extracto es más rápido el uso de un menor volumen.

El espectro de UV-VIS obtenido en el presente trabajo, lo podemos comparar con el trabajo de Pérez, J. (2002), donde observamos que la tendencia de ambos es similar,

corroborando así que la época de recolección de la planta no influye, como se había mencionado anteriormente; ya que en este trabajo utilizan planta recolectada en Junio y la de nosotros es de Abril, identificando que la concentración de principios activos no varía. Se prepararon de la misma forma las soluciones de lectura, 225 µg de sólido por ml de solvente, y como blanco los mismos, se examinaron los espectros de absorción a la misma longitud de onda, es por ello que con esto obtenemos un espectro de UV-VIS patrón, con lo cual la técnica empleada puede ser desarrollada en trabajos posteriores y podríamos decir que esta se encuentra estandarizada. Recomendamos que en trabajos futuros donde empleen esta planta, realicen la técnica espectrofotométrica de UV-VIS, para corroborar que los principios activos se encuentran presentes; es importante recordar que la técnica de preparación debe ser la misma para así evitar información errónea.

En un trabajo realizado por Kostennikova, A. (1984), en la evaluación espectrofotométrica determinó que la longitud de onda para la lectura de tinturas de *Caléndula officinalis*, específicamente la presencia de flavonoides la realizó a una longitud de onda igual a 370 nm, aunque ahora sabemos que si los flavonoides son extraídos con

un alcohol, como lo es metanol, y al realizarles un estudio de espectrofotometría UV-VIS, presentan bandas características debidas a los sistemas conjugados de los anillos aromáticos. Las flavonas y flavonoles muestran dos bandas definidas: La banda I, de mayor longitud de onda en el rango 300-390 nm asociada con la funcionalidad cinamoílo, su posición depende del tipo de flavonoide: las flavonas la muestran en 310-350 nm, los flavonoles 3-O-sustituidos en 330- 360 nm, y los flavonoles en 350-385 nm. La banda II, entre 250-280 nm debida al anillo aromático A (funcionalidad benzoílo), aunque a veces se observan otras bandas de absorción. Por lo que en la determinación realizada por nosotros, empleamos un rango de 200 a 500 nm, dentro del cual en 255 y 335 nm, se observa una máxima absorción del extracto de la planta, motivo por el cual podemos decir que la concentración de los principios activos es el adecuado con respecto a lo señalado en las referencias.

Lastra, H. (1999), en su trabajo recomienda la elaboración de extractos etéreos, etanólicos o elaborados con propilenglicol, los cuales son utilizados en la confección de fitofármacos y fitocosméticos de amplia demanda y de muy buenas potencialidades económicas, elaboramos 5 litros de extracto etanólico para llevar a

cabo toda la experimentación, los cuales brindan un rendimiento de extracto seco equivalente a 18g de sólido, la intención de emplear un extracto elaborado por nosotros, radica en que podemos determinar fácilmente cual es la concentración exacta del mismo, se puede filtrar más rápidamente por que no existen tantas impurezas como las de un comercial, ya que a estos en ocasiones se les tiene que colocar un conservador, o su fabricación es muy compleja, lo que provoca perdidas en los principios activos, además de que desconocemos en su totalidad la metodología por medio de la cual se obtiene dichos extractos, así como el control de calidad que deben tener estos para poder ser empleados en la elaboración de productos para uso humano. Otra diferencia importante entre un preparado comercial y un preparado elaborado en nuestro laboratorio es que los principios activos se encuentran exclusivamente en los pétalos (Muñoz, L. 2004) y los productos comerciales en su gran mayoría están hechos con pétalos, cabezuelas, hojas y tallos. En base a esto nosotros creemos que nuestro extracto es de mayor calidad.

En lo que respecta a la eficiencia del método de extracción es bueno, ya que este solo tarda máximo 2 días para poder obtener la mayor concentración de

principios activos disueltos en el solvente empleado, el tratamiento con rotavapor, es para economizar el costo del mismo.

La gran mayoría de los experimentos reportados bibliográficamente dicen que el disolvente para extractos no polares es el DMSO (Dimetilsulfoxido), el cual es un componente que se emplea solo en preparados farmacéuticos para animales, donde su concentración es mínima, para el caso de humanos no se recomienda por que puede causar efectos carcinogénicos. Por esta razón decidimos emplear la glicerina como el disolvente, para realizar esta prueba preparamos la solución con 225 $\mu$ g de sólido por ml del mismo, se leyó en el espectrofotómetro de UV-VIS, a las longitudes de onda determinadas anteriormente, con un resultado positivo, es decir, comprobamos que estos si eran solubles en este excipiente lipofílico, razón por la cual se decidió elaborar los óvulos a base de glicerina-gelatina, utilizando la tecnología farmacéutica adecuada, debido a que estos se preparan por moldeado. En México aún no se emplean los fitomedicamentos, debido a que no hay gran información sobre ellos, sin embargo en países como España, si existen diversas formas farmacéuticas elaboradas con plantas medicinales, como lo son las

cremas dermatológicas y antiartríticas, que son de uso tópico, al igual que soluciones oftálmicas, y óvulos elaborados con oleato de Caléndula y como excipiente la glicerogelatina, los cuales son empleados para el tratamiento de las infecciones vaginales. En la FES Cuautitlán, el equipo de Cruz, J.G. y Licea, V.J.A. vienen trabajando desde hace 10 años en el diseño de fitofármacos para veterinaria, dentro de los cuales tienen ya diseñado un bolo y una solución intrauterina para vacas, con el trámite de registro de marca; y se está experimentando con el diseño de un sellador de tetas y una solución contra la otitis canina. Por otro lado en el área humana se diseñó en colaboración con el Laboratorio de Tecnología Farmacéutica dirigido por el Dr. David Quintanar un óvulo intravaginal para el control y tratamiento de diferentes padecimientos genitales.

El tratamiento alternativo de las infecciones vaginales, emplea óvulos preparados igualmente con excipiente glicerogelatinado, combinándolo con otros principios como el estradiol, vitamina A y E, conservador como el metilparabeno.

Para la elaboración de los óvulos, es importante mencionar que la mezcla glicerina-gelatina-agua fue

esterilizada antes de ser empleada para la disolución de los cristales de *Caléndula officinalis* los cuales ya se encuentran estériles; el método de esterilización fue en autoclave a 15lb/121°C, lo cual no desnaturaliza la gelatina empleada, por lo tanto es bueno, por que permite el trabajo de la mezcla para la fabricación de la forma farmacéutica, cabe mencionar que es seguro, ya que es necesario debido a que estas formas deben tener un control microbiológico, para evitar contaminación de la mezcla, y por consiguiente de los óvulos, lo que causaría un aspecto no presentable para estos como el objetivo de esto es seguir manteniendo este control se trabajo en la campana de flujo laminar, la cual fue monitoreada antes de usarla para corroborar que esta proporcionara la esterilidad necesaria para poder emplearla, también se utilizaron guantes, cubrebocas y cofia, con el objetivo de impedir la manipulación directa de la forma farmacéutica y causar la contaminación microbiológica de la misma, lo cual no brindo un resultado satisfactorio cuando a los óvulos se les realizó la prueba de esterilidad, donde encontramos que no presentaban ningún tipo de contaminación, es decir, presencia de microorganismos que alteraran su presentación.

Los métodos microbiológicos utilizados en este trabajo, como la técnica en tubo, la prueba de MTT y la técnica en placa para analizar si los componentes de la forma farmacéutica eran estériles, son adecuados para la evaluación, la primera se decidió emplearla por el tamaño de la forma farmacéutica, en esta utilizamos tubos de diámetro grande, como se muestra en la figura 8, además porque en estos el área de contacto de los elementos del óvulo y el medio solo o con las bacterias de experimentación era mayor que en un placa, ya que en la placa la disolución del óvulo no se llevaría por completo, y todos los principios no estarían en contacto con el medio, es importante mencionar que con esta técnica se conoce la concentración exacta de bacteria presente en solución. La segunda ,técnica de MTT es apropiada, debido a que se emplea para verificar la viabilidad de las células, es un método sencillo, rápido y de fácil lectura, el cual lo realizamos inmediatamente después del tiempo de incubación de los tubos, con lo que analizamos el efecto de la forma farmacéutica sobre las bacterias presentes en tracto genital femenino, y así pudimos darnos cuenta del tipo de efecto que se presentaba el cual lo corroboramos con la técnica en placa, lo que confirmo nuestras sospechas sobre el efecto bactericida en presencia de *Escherichia coli* y



bacteriostático para *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Enterococos*, lo que nos indica que la eficacia de este fitofármaco es buena. Considero que la técnica en placa que fue la última en ser empleada ayuda solo para observar si las bacterias y levaduras son viables después de haber estado en contacto con el óvulo, lo que no podríamos corroborar en un tubo, ya que las técnicas en tubo se analizan por la turbidez que se presenta en ellos, y en una placa se evalúa todas las características de la colonia, para su identificación. Con lo anterior puedo decir que fueron adecuados para examinar si teníamos un buen control microbiológico.

Para las pruebas físicas y químicas que se deben realizar a una forma farmacéutica, elaborada a base de la glicerina y gelatina, según la Farmacopea, son el peso y tiempo de disolución, para el primero el peso promedio fue de 5.7g el cual entra en los parámetros establecidos que son de 5 a 15g, donde podemos analizar que se encuentra uniforme en su aspecto, el tiempo total de disolución fue de 2h, este fue evaluado a 37°C, que es la temperatura corporal de cuerpo, y la que es indicada para estas evaluaciones, debido a que es la temperatura corporal que presentamos, es apropiado para una forma farmacéutica elaborada con este tipo de excipiente, el

cual permite una liberación del 97% de la concentración inicial del extracto, que es suficiente para obtener buenos resultados en la prueba del tipo de efecto en bacterias y levaduras causantes de las infecciones vaginales humanas.

De acuerdo a trabajos como los de Barrenetxea (2002) y Meis (2001), el tratamiento recomendado en el caso de las infecciones vaginales humanas son los antibióticos que tienen en su estructura un anillo imidazólico, como lo es el clotrimazol, fluconazol, metronidazol, esta clase de fármacos actúan principalmente inhibiendo la síntesis de la pared celular y que son medicamentos de tercera generación, contra los cuales podemos encontrar que ya existe resistencia a estos por parte de las bacterias causantes, es por ello la necesidad de una alternativa en contra de estas, y que mejor un producto naturista el cual es fácil de elaborar y que presenta un bajo costo, y el cual sería accesible para las mujeres que presentan esta enfermedad, en comparación con un medicamento de alto costo y que puede provocar los problemas antes mencionados.

En los estudios farmacológicos realizados con extractos o fracciones a partir de las flores de *Caléndula officinalis* se

han detectado las mismas propiedades que se informan en la medicina tradicional; así tenemos que Dumenil, (1980) plantea que los extractos etanólicos al 80 % mostraron actividad antibacteriana especialmente contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus fecalis*. Omelchuk (1984) y Fleischner (1985) realizaron estudios en los que se demostró la propiedad antiinflamatoria de extractos de *Caléndula*. Michel (1977) y Fleischner (1985) demostraron el poder cicatrizante de los extractos de *Caléndula officinalis* en animales de experimentación y en humanos, nosotros empleamos un extracto etanólico elaborado al 75%, el cual igual presenta actividad bacteriostática en presencia de *Staphylococcus aureus* lo que concuerda con los trabajos de Dumenil.

Baños, F. et.al.(2000) en un estudio in-vitro con tintura de *Caléndula officinalis* demostraron su efecto bactericida en contra de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* ATCC 25922; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Streptococcus mutans* G536; *Streptococcus mutans* LRA, *Streptococcus imitidis*; *Streptococcus sanguis*, en sus resultados fue un halo de inhibición de 1cm, estas bacterias se ajustaron en crecimiento al 0.5 del Nefelometro de McFarland, con lo que respecta al presente trabajo, se realizó el mismo

método, y también encontramos que inhibe a , *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, aunque no serían muy comparables ya que nuestro trabajo está enfocado a microorganismos presentes en la biota vaginal humana y en el reporte trabajaron con bacterias presentes en la placa dentobacteriana.

En otro trabajo realizado por Pires, M. (2002), estudian el efecto de un dentífrico fitoterapéutico con acción bactericida y antiinflamatoria, emplean un extracto glicólico de *Caléndula officinalis*, donde demuestra que es bactericida en contra de *Streptococcus mutans* y su acción antiinflamatoria. Nosotros no trabajamos con esta bacteria pero sí con *S. faecalis*, en nuestro trabajo no empleamos ninguna de estas bacterias, considero que se debería realizar, para poder así analizar más sobre el efecto antimicrobiano que presenta *Caléndula officinalis*.

Picasso, K. et.al. (2001)., en su trabajo: Localización de compuestos con efecto antimicrobiano de *Fluorencia cernua*, *Larrea tridentata* y *Caléndula officinalis*, sobre *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tenerella forsythensis* y *Streptococcus intermedius*, todas ellas presente en placa dental, en el cual sus resultados encontraron que los triterpenos presentes son los

responsables del efecto bactericida de las plantas medicinales antes mencionadas, así como las coumarinas que también presentan esta acción. Ukiya, M. (2006), también encuentra que los triterpenos son los responsables de los efectos benéficos en ayuda de los flavonoides que presenta *Caléndula officinalis*, principalmente del efecto antiinflamatoria. Estos constituyentes, son los más estudiados, Heinrich, M. (2004), menciona que la propiedad antiinflamatoria que tiene la planta es gracias a la presencia de los triterpenos lipofílicos con los que cuenta, actividad que fue comprobada por Ukiya, M. (2006), sin embargo no tiene relación con los resultados obtenidos por Picasso K, et. al. (2001).

Aunque en México, aun no existe un tratamiento naturista para esta clase de infecciones, ya que no hay trabajos reportados. También es importante mencionar lo que Feria, I. (2006) menciona en su trabajo sobre el control de calidad de las drogas vegetales, en donde comenta que la comercialización de los fitomedicamentos se encuentra normada por instancias gubernamentales u organismos internacionales que consideran al control de calidad como la columna vertebral de desarrollo tecnológico de estos productos. En las monografías de

referencia, se describen los principales requisitos que debe cumplir una droga vegetal para poder garantizar su eficacia terapéutica y su seguridad en el consumo humano; estos parámetros se inscriben dentro del amplio concepto de control de calidad para la fabricación de fitomedicamentos, sin embargo, a medida que han ido comercializando cada vez con más éxito económico estos productos, el mercado de plantas medicinales ha ido sufriendo cambios debido a la frecuente adulteración de las materias primas, la proliferación de polimorfismos en variedades sometidas a intenso cultivo, las dificultades inherentes al almacenamiento y transportación de grandes volúmenes de materiales vegetales; *Caléndula officinalis* no es la excepción, es una planta medicinal que cuenta con su monografía en la Farmacopea Española. Sin embargo en nuestro país es una droga de venta libre usada como antiinflamatoria y regeneradora del epitelio, y fue aprobada por el Ministerio de Salud para su uso medicinal como antiinflamatorio y cicatrizante, inmunoestimulante y antimicrobiano, aunque en nuestro país la explotación de *Caléndula* esta totalmente controlada, existen sitios específicos donde llevan a cabo la reproducción de la planta, y no existe ningún riesgo de alteración en la misma y de sus componentes.

*Caléndula officinalis* es una planta medicinal, que se siembra en diversos países y en los cuales se ha realizado una extensa investigación sobre sus propiedades curativas, también encontramos que muchos científicos han reportado su actividad como antimicrobiano en contra de bacterias que representan un interés clínico. Ha sido empleada en fitofármacos para el tratamiento en contra de bacterias presentes en la placa dental, sin embargo ninguno de estos, se destina para el tratamiento de las infecciones vaginales, es por ello que nos consideramos uno de los primeros que la realizan, y que presentamos una forma farmacéutica que se emplea para este padecimiento y el cual se encuentra en bajo costo, por lo que es importante realizar más investigación con este extracto y en presencia de otras cepas bacterianas que provocan este padecimiento lo cual se debe realizar *in-vivo* e *in-vitro*, debido a que ahora se presentan con mayor frecuencia.

# **Conclusiones y Sugerencia**



## 8. CONCLUSIONES

Logramos la elaboración de la forma farmacéutica sólida (óvulo) con extracto de *Caléndula officinalis* para el tratamiento de ectropión e infecciones vaginales en mujeres.

El diseño de la formulación para la presentación farmacéutica fue a base de una mezcla de excipiente glicerina-gelatina-agua, en una proporción de 60%, 10% y 30% respectivamente.

Identificamos los factores que influyen en la calidad de los óvulos, en los cuales determinamos que su aspecto físico es bueno, el tiempo de disolución apropiado, la uniformidad de masa es buena, el contenido de principio activo es de 97mg de extracto liberado por lo cual es apropiada para la forma farmacéutica y las pruebas de esterilidad son excelentes, no se encuentra contaminada con ningún tipo de microorganismo que dañe las propiedades antes mencionadas.

Las pruebas in-vitro sobre su efecto en bacterias y levaduras causantes de infecciones vaginales, identificamos la presencia de un efecto bacteriostático en

contra de *Enterococos*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, y bactericida con *Escherichia coli*.

#### SUGERENCIA

En cuanto a su aplicación *in-vivo*, esta será realizada posteriormente, recordando emplear los respectivos controles positivos y negativos.

# **Bibliografía**

## 9. BIBLIOGRAFIA

1. AKHISA, T. (1996). Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry*. No. 43. pp. 1255-1260.
2. AUSINA, V. (2006). Tratado SEIMC de Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Ed. Médica Panamericana. España. pp 348-356.
3. ACOSTA, L. (2001). Instructivo técnico de *Caléndula officinalis*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. Vol. 1. Pp. 23-27.
4. BAKÓ, E. et. al. (2002). HPLC study on the carotenoid composition of *Calendula* products. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. Ed. Elsevier
5. BAÑOS, F. (2000). Efecto antimicrobiano "in vitro" de la tintura de *Árnica montana* y *Caléndula officinalis* sobre *Streptococcus mitis*. IPN
6. BARBOUR, E.K. (2004). Evaluation of homeopathy in broiler chickens exposed to olive viral vaccines and

administered *Caléndula officinalis* extract. Med. Sci. Monit. 10(8). Pp 281-288.

7. BARRENETXEA, G. (2002). Vulvovaginitis candidiásica. Revista Iberoamericana de Micología. Vol 19. España. pp. 22-24
8. BLANCA, L. (1993). Control biológico para productos farmacéuticos. UAM Xochimilco.
9. BOUCAUD-MAITRE, Y. (1988). Cytotoxic and antitumoral activity of *Caléndula officinalis* extract. Pharmazie. No. 43. pp. 220-221.
10. BREEZE, E. et.al. (2004). Gene expresión patherns to define stages of post-harvest senescente in *Alstroemeria* petals. Plant Biotechnology Journal. 2(2). pp 155-168.
11. CAÑIGUERAL, S. (2006). Las monografías de calidad, seguridad y eficacia en el uso racional de los preparados a base de plantas medicinales. Revista de Fitoterapia. Volumen 6. Suplemento 1. pp25.

12. CECHINI, T. (2004). El libro de las hierbas medicinales. Ed. De Vecchi. España. pp. 34-38.
13. CETKOVIÉ, G. et. al. (2004). Antioxidant properties of marigold extracts. Food Research International. Ed. Elsevier. Pp. 643-650.
14. CRUZ, G. et.al. (2002). Elaboración de una forma farmacéutica sólida (bolo) con extracto de *Caléndula officinalis* para el tratamiento de vacas con retención placentaria. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, Vol. 33 No. Especial.
15. CRUZ, R. CALDERON, E. (1985). Diagnóstico rápido de infecciones cervicovaginales. Infectología. Año VI. Num 5. pp. 115-120.
16. DEV, S. (1989). CRC. Handbook of terpenoids, triterpenoids. Vol. I-II. Florida. Pp 32, 36. 78,105, 178.
17. DUKE, J. (2002). Handbook of Medicinal Herbs. 2<sup>a</sup> ed. Ed. CRC Press. USA. Pp 139-140.

18. DUMENIL G. (1980). Evaluation of antibacterial properties of *Calendula officinalis* Lin. flowers and mother homeopathic tinctures of *C. officinalis*. Ann Pharm Fr. Vol 38(6). Pp 493-499.
19. ECHEMENDIA. C. (2006). Herbolaria.  
URL <http://www.16deabril.sld.cu/apuntes/mnt>
20. FERIA, I. (2006). Nuevas herramientas de biología molecular para el control de calidad de las drogas vegetales. Revista de Fitoterapia. Volumen 6. Suplemento 1. pp. 79.
21. FINKEL, T. HOLBROOK, N.J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the Biology of Ageing. Nature 408. pp. 239-247.
22. FLEISCHNER AM. (1985) Plants extract to accelerate healing and reduce inflammation. Cosmet Toilet, 45-46, 48-51, 54-58.
23. GARCÍA, D. (1996). Estudio farmacognóstico de *Caléndula officinalis* L. (Caléndula). Revista Cubana. Plant Med. Vol 1. No. 3. pp. 21-25.

24. GARCÍA, J. (1998). Microbiología Médica. Vol. 2 Microbiología Clínica. Ed. Harcourt Brace. España. pp. 350-355.
25. GEHRMANN, B. (2005). Medicinal Herbs A Compendium. Ed. Oxford. Pp. 42
26. HAMBURGER, M. et. al. (2003). Preparative purification of the major anti-inflammatory triterpenoid esters from Marigold (*Calendula officinalis*). Fitoterapia. Vol. 74. Ed. Elsevier. Pp. 328-338.
27. HARBORNE, J. (1999). The Handbook of Natural Flavonoids. Vol I. Ed. John Wiley & Sons. New York. Pp. 1875- 1880.
28. HEINRICH, M. (2004). Fundaments of pharmacognosy and phytotherapy. Ed. Churchill Livingstone. España. pp. 27, 34, 270
29. KOSTENNIKOVA, A. (1984). UV spectrofotometric quantitative determination of flavonoids in *Caléndula* tincture. Farmatsiya. Vol. 33. No. 6. pp. 33-35.



30. LASTRA, H. (1999). *Caléndula officinalis*. Artículos de Revisión. Revista Cubana de Farmacología. Tomo 33. Num. 3. Pp188-194.
31. LATARJET, M. (2005). Anatomía Humana. 4ª ed. Tomo 2. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pp. 1607-1643.
32. LICEA, J.A. et.al. (1998). Uso del extracto vegetal de pétalos de *Caléndula officinalis* en el tratamiento de metritis crónica purulenta del ganado Holstein Frisian. XXXIV Reunión Nacional de investigación Pecuaria.
33. LOPEZ, J. et al (2005). Vulvovaginitis. Guías Clínicas
34. MATHIOWITZ, E. (1999). Enciclopedia of Controlled drug delivery. Vol 2. Ed. John Wiley & Sons. New York.
35. MEIS J, Verweij PE. (2001). Current treatment of micotic infections. Drugs, No. 61 (suppl): 15-26

36. MICHEL F. (1977). *Apis mellifica* and *Calendula officinalis* Lin. combination active against sunburn. Ger Offen.
37. MORALES, M. (2002). Efecto de la Caléndula *officinalis* en *Pseudomonas aeruginosa* evidenciada por microscopia electrónica. UNAM. Pp. 18-19, 25-27.
38. OMELCHUK MA, Krivut BA, Voroshilov A. (1984). Efectos de las condiciones de secado en la calidad de *Caléndula officinalis* Lin. como materia prima para medicamentos. Khim Farm Zh. Vol 18. Pp 329-331
39. O'GORMAN, H. (1963). Plantas y Flores de México. UNAM. México. pp 188.
40. PALAPOP, R. (2003). Real Farmacopea Española. 2ª ed. Publicada por el Ministerio de Sanidad y Consumo por Mandato de la Ley 25/1990. Madrid. Pp. 208-209, 215, 240-241, 616-619, 897-898.
41. PEREZ, J. (2002). Genotoxic and anti-genotoxic properties of *Calendula officinalis* extracts in rat liver

cell cultures treated with diethylnitrosamine. Toxicology in Vitro 16. Ed. Elsevier. Pp 253-258.

42. PICASSO, K. et.al. (2001). Localización de compuestos con efecto antimicrobiano de *Fluorencia cernua*, *Larrea tridentata* y *Caléndula officinalis*, sobre *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tenerella forsythensis* y *Streptococcus intermedius*. Facultad de odontología. Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición. Monterrey.
43. PIRES, M. (2002). Nuevo dentífrico fitoterapéutico con acción bactericida y antiinflamatoria. Facultad de Farmacia. Sevilla.
44. QUATTROCCHI, U. (2000). CRC World Dictionary of Plant names, common names, Scientific names, eponyms, Synonyms and Etymology. Vol. 1. New York. Pp 395.
45. QUER, Font P. (1985). Plantas Medicinales. Ed. Labor. México. Pp. 832-834.

46. SCAGLIONE, F. (2006). Molecular bases of the immunomodulatory activity of medicinal plant extracts. *Revista de Fitoterapia*. Volumen 6. Suplemento 1. pp. 43.
47. TORRE, S. (1999). Calcium regulation of senescence in rose petals. *Physiologia Plantarum*. 107 (2). pp. 214-219.
48. TORTORA, G. REYNOLDS, S. (2003). *Principios de Anatomía y Fisiología*. 9ª ed. Ed. Oxford University Press. México. pp. 1055-1060.
49. UKIYA, M., et.al.(2006). Anti-inflammatory, Anti-tumor-promoting and Cytotoxic Activities of constituents of Marigold (*Calendula officinalis*) flowers.
50. WILLS, B. (1998) et. al. *Postharvest and introduction to the physiology and handling of fruit, vegetable and ornamental*. 4a. ed. CAB International. Australia. pp. 276.

51. ZARAZUA, A. (2000). Frecuencia de vaginosis bacteriana en la amenaza de parto pretérmino (APP). UNAM. México.

