



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EVALUACIÓN DE UN GEL CON EL EXTRACTO CRA-13
COMO POSIBLE REGENERADOR DE TEJIDO EN
QUEMADURAS DE PRIMER GRADO EN RATAS CEPA
WISTAR Y EVALUACIÓN DÉRMICA EN CONEJO CEPA
NUEVA ZELANDA”.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

SANDRA ANGÉLICA BLANCAS MEJÍA



MÉXICO, D.F.

2014



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.

JURADO ASIGNADO

PROFESORES

PRESIDENTE

M.V.Z. Atonatiu Edmundo Gómez Martínez

VOCAL

M. en I. Liliana Aguilar Contreras

SECRETARIO

Dra. Ruth Bustamante García

1er. SUPLENTE

Dra. María Josefa Bernad Bernad

2do. SUPLENTE

Dr. Guillermo Celestino Cardoso Saldaña

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Bioterio 5° Piso, Edificio "A", Facultad de Química, UNAM.

ASESOR DEL TEMA

Dra. Ruth Bustamante García

SUPERVISOR TÉCNICO

M. en C. Cecilia Hernández Flores

SUSTENTANTE

Sandra Angélica Blancas Mejía

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
Índice de figuras	<i>i</i>
Índice de tablas	<i>ii</i>
Abreviaturas	<i>iii</i>
1 Introducción	1
1.1 La piel.....	1
1.1.1 Estructura de la piel	2
1.1.1.1 Epidermis	3
1.1.1.2 Queratinización y epidermopoyesis.....	5
1.1.1.3 Dermis.....	6
1.1.1.4 Tejido celular subcutáneo o hipodermis	7
1.1.2 Funciones de la piel	7
1.2 Heridas.....	7
1.2.1 Proceso de curación de heridas cutáneas.....	7
1.2.1.1 Curación de heridas epidérmicas	8
1.2.1.2 Curación de heridas profundas	9
1.3 Quemaduras.....	11
1.3.1 Clasificación de las quemaduras.....	11
1.3.1.1 Clasificación de las quemaduras en función del agente productor	11
1.3.1.2 Clasificación de las quemaduras según la profundidad.....	12
1.3.1.3 Clasificación de Converse-Smith.....	12
1.3.1.4 Clasificación de Benaim-Artigas.....	13
1.3.1.5 Clasificación de las quemaduras según su gravedad	15
1.3.1.6 Extensión de superficie quemada.....	16
1.3.1.7 Clasificación de la Asociación Americana de quemaduras	17
1.3.2 Tratamiento de las quemaduras.....	17
1.3.2.1 Tratamiento del quemado grave.....	17
1.3.2.2 Tratamiento del quemado leve.....	17
1.3.2.3 Tratamiento de aplicación tópica en quemaduras menores	18
1.4 Productos de aplicación tópica.....	19
1.4.1 Medicamentos	19
1.4.2 Fitofármacos	20
1.4.3 Remedios herbolarios	20
1.5 Geles.....	21
1.5.1 Definición.....	21
1.5.2 Propiedades fisicoquímicas de los geles	22
1.5.3 Clasificación de los geles.....	22
1.5.4 Ventajas y desventajas de los geles.....	24
1.5.5 Estabilidad de los geles	25
1.5.6 Elaboración de geles	25
1.5.6.1 Agentes gelificantes.....	25
1.5.7 Formulación de geles.....	26

1.5.8	Elaboración y acondicionamiento.....	27
1.5.8.1	Incorporación de activos	28
1.6	Desarrollo farmacéutico	28
1.6.1	Preformulación.....	29
1.6.2	Formulación.....	30
1.6.3	Evaluación.....	30
1.6.4	Estabilidad.....	31
2	Justificación	32
3	Objetivos	33
3.1	Objetivo general.....	33
3.2	Objetivos particulares	33
4	Hipótesis	34
5	Material y Métodos	35
5.1	Esquema general de trabajo	35
5.2	Materiales.....	36
5.2.1	Instrumentos, equipos y materiales	36
5.2.2	Reactivos químicos.....	37
5.2.3	Reactivos biológicos	38
5.2.3.1	Material vegetal	38
5.2.3.2	Animales de experimentación	38
5.3	Métodos.....	39
5.3.1	Descripción macroscópica del material vegetal	39
5.3.2	Obtención del extracto acuoso CRA-13.....	39
5.3.3	Evaluación de la toxicidad del extracto acuoso CRA-13 mediante el ensayo de toxicidad aguda en <i>Artemia salina</i>	41
5.3.4	Propuesta de formulación de un gel con el extracto acuoso CRA-13	44
5.3.4.1	Diseño del gel con el extracto acuoso CRA-13.....	44
5.3.4.2	Preformulación.....	45
5.3.4.2.1	Caracterización del principio activo	45
5.3.4.2.2	Estudio de compatibilidad de materias primas.....	45
5.3.4.3	Formulación.....	45
5.3.4.4	Elaboración del gel con el extracto acuoso CRA-13	46
5.3.4.5	Pruebas de calidad del gel con el extracto CRA-13.....	49
5.3.4.5.1	Determinación de propiedades organolépticas	49
5.3.4.5.2	Determinación de propiedades fisicoquímicas.....	49
5.3.4.5.2.1	Determinación del pH	49
5.3.4.5.2.2	Determinación de la viscosidad.....	50
5.3.5	Prueba de irritación en piel de conejos.....	52
5.3.6	Estandarización del modelo de quemadura en rata	54
5.3.6.1	Modelos de quemaduras.....	54
5.3.6.1.1	Modelo de quemadura con agua.....	54
5.3.6.1.2	Modelo de quemadura con parafina	55
5.3.6.1.3	Modelo de quemadura con cerrillo	55
5.3.7	Evaluación de la actividad reepitelizante del gel con el extracto acuoso CRA-13...	55
5.3.7.1	Procesamiento y evaluación histopatológica	58

6	Resultados	61
6.1	Descripción macroscópica del material vegetal	61
6.2	Evaluación de la toxicidad del extracto acuoso CRA-13 mediante el ensayo de toxicidad aguda en <i>Artemia salina</i>	61
6.3	Propuestas de formulación del gel con el extracto CRA-13.....	63
6.3.1	Pruebas de calidad	63
6.4	Prueba de irritación en piel de conejos.....	64
6.5	Estandarización del modelo de quemadura en rata	67
6.5.1	Evaluación macroscópica de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemaduras.....	67
6.5.2	Evaluación microscópica de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemaduras.....	69
6.6	Evaluación de la actividad reepitelizante del gel con el extracto acuoso CRA-13...	70
6.6.1	Evaluación histopatológica.....	77
6.7	Propuesta de formulación elegida del gel con el extracto acuoso CRA-13.....	78
6.7.1	Determinación de las propiedades fisicoquímicas del producto final	78
7	Discusión	79
8	Conclusiones	85
9	Referencias	87
10	Anexos	93

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1	Corte transversal de la piel y tejido subcutáneo 1
Figura 2	Corte transversal de piel 2
Figura 3	Estructura de la epidermis 4
Figura 4	Curación de las heridas de la piel..... 9
Figura 5	Clasificación de las quemaduras 13
Figura 6	Regla de los 9 (Pulazky-Tennisson) para determinar la extensión de una quemadura 16
Figura 7	Diagrama de flujo del desarrollo farmacéutico 29
Figura 8	Diagrama general de trabajo 35
Figura 9	Diagrama de flujo de la obtención del extracto acuoso CRA-13 40
Figura 10	Diagrama de flujo del ensayo de toxicidad aguda en <i>Artemia salina</i> 43
Figura 11	Diagrama de flujo de la elaboración del gel con el EACRA-13 48
Figura 12	Diagrama de flujo de la determinación de las propiedades fisicoquímicas del gel con el extracto acuoso CRA-13 51
Figura 13	Diagrama de flujo de la prueba de irritación en piel de conejos..... 53
Figura 14	Distribución de los grupos experimentales para la evaluación de la actividad reepitelizante del gel con el EACRA-13 56
Figura 15	Diagrama de flujo de la evaluación de la actividad reepitelizante del gel con el extracto acuoso CRA-13 57
Figura 16	Procesamiento histopatológico..... 59
Figura 17	Diagrama de flujo del proceso histopatológico..... 60
Figura 18	Determinación de la CL ₅₀ por el método de Reed-Muench 62
Figura 19	Prueba de irritación en piel de conejos 66
Figura 20	Lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemadura 67
Figura 21	Evolución de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemadura 68

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1	Factores estimuladores e inhibidores del proceso de queratinización y epidermopoyesis 6
Tabla 2	Comparación entre las diferentes clasificaciones de las quemaduras de acuerdo a su profundidad..... 15
Tabla 3	Clasificación de la Asociación Americana de quemaduras 17
Tabla 4	Tratamiento de aplicación tópica en quemaduras menores 18
Tabla 5	Propiedades fisicoquímicas de los geles..... 22
Tabla 6	Clasificación de los geles de acuerdo a sus propiedades 23
Tabla 7	Componentes principales en la formulación de un gel..... 27
Tabla 8	Lista de instrumentos, equipos y materiales utilizados 36
Tabla 9	Reactivos químicos utilizados 37
Tabla 10	Especificaciones de calidad del producto a elaborar 44
Tabla 11	Excipientes y aditivos seleccionados para la formulación 45
Tabla 12	Excipientes y aditivos utilizados en la formulación de la base de gel 46
Tabla 13	Descripción macroscópica del material vegetal 61
Tabla 14	Propuestas de formulación del gel 63
Tabla 15	Evaluación de las especificaciones de calidad de las formulaciones 64
Tabla 16	Evaluación de la presencia de eritema en la piel de conejos 65
Tabla 17	Evaluación de la presencia de edema en la piel de conejos 65
Tabla 18	Índice de irritación primaria y clasificación de los geles evaluados 66
Tabla 19	Evaluación histopatológica de los diferentes modelos de quemaduras 69
Tabla 20	Comparación de los resultados microscópicos y macroscópicos de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemaduras y su clasificación..... 70
Tabla 21	Evaluación histopatológica de las quemaduras con agua bajo tratamiento 71
Tabla 22	Evaluación histopatológica de las quemaduras con parafina bajo tratamiento 73
Tabla 23	Evaluación histopatológica de las quemaduras con cerillo bajo tratamiento 75
Tabla 24	Evaluación histopatológica del efecto reepitelizante de los geles con el EACRA-13 77
Tabla 25	Formulación del producto final 78
Tabla 26	Propiedades fisicoquímicas del gel con el EACRA-13..... 78
Tabla 27	Evaluación de la presencia de eritema..... Anexo 2
Tabla 28	Evaluación de la presencia de edema..... Anexo 2
Tabla 29	Índice de irritación primaria y categorías Anexo 2

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

±	Más menos
°C	Grados Celsius
%	Por ciento
®	Marca registrada
<	Menor que
ABA	Asociación Americana de quemaduras (del inglés, American Burn Association)
AINES	Antiinflamatorios no esteroideos
Art.	Artículo
AT	Azul de toluidina
bFGF	Factor básico de crecimiento de fibroblastos (del inglés, basic fibroblast growth factor)
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
BPL	Buenas Prácticas de Laboratorio
c/	Con
CaCl ₂ ·2H ₂ O	Cloruro de calcio dihidratado
cbp	Cuanto baste para
CYTED	Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo
CL ₅₀	Concentración letal 50
cm	Centímetro
CO ₂	Dióxido de carbono
coc	Decocción
cps	Centipoise
cs	Cantidad suficiente
EACRA-13	Extracto acuoso CRA-13
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
Ej.	Ejemplo
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
Etc.	Etcétera
FDA	Agencia de alimentos y medicamentos (del inglés, Food and Drug Administration)
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
EGF	Factor de crecimiento epidérmico (del inglés, epidermal growth factor)
g	Gramos
GMPc	Guanosín monofosfato cíclico
G.R.	Grado reactivo
h	Hora
H ₃ O ⁺	Iones hidronio
HE	Hematoxilina-eosina
IFN-α	Interferon alfa
IFN-γ	Interferon gamma
IIP	Índice de irritación primaria
IL-1α	Interleucina-1-α
Inf	Infusión
IP	Intraperitoneal

$K_2Cr_2O_7$	Dicromato de potasio
KBr	Bromuro de potasio
KCl	Cloruro de potasio
kg	Kilogramo
KGF	Factor de crecimiento de los queratinocitos (del inglés del inglés, keratinocyte growth factor o fibroblast growth factor 7)
LGS	Ley General de Salud
m ²	Metros cuadrados
mg	Miligramo
MGA	Método General de Análisis
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	Cloruro de magnesio hexahidratado
µg/mL	Microgramo por mililitro
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MV	Material vegetal
N	Número
N/A	No aplica
Na_2SO_4	Sulfato de sodio
NaCl	Cloruro de Sodio
$NaHCO_3$	Bicarbonato de sodio
NaOH	Hidóxido de sódio
NOM	Norma Oficial Mexicana
O/W	Emulsiones aceite en agua (del inglés, oil-water emulsions)
PBS	Tampón fosfato salino (del ingles, phosphate buffered saline)
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Parte por millón
PVC	Cloruro de polivinilo
RIS	Reglamento de Insumos para la Salud
rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundo
s/	Sin
SC	Subcutánea
SCQ	Superficie Corporal Quemada
SSI	Solución Salina Isotónica 0.9%
TAS	Emulsiones bifásicas de agua en siliconas (del inglés, transparent aqua silicone emulsions)
TGF-α	Factor de crecimiento de transformación alfa (del inglés, transforming growth factor alpha)
TGF-β	Factor de crecimiento de transformación beta (del inglés, transforming growth factor beta)
TNF	Factor de necrosis tumoral (del inglés, tumor necrosis factor)
TOW	Emulsiones bifásicas de agua en aceite, (del inglés, transparent oil in wáter emulsions)
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
USP	Farmacopea de Estados Unidos (del inglés, United States Pharmacopeia)
UV	Rayos Ultra Violeta
W	Watt
W/S	Emulsiones de siliconas en agua (del inglés, water-silicone emulsions)
X	Número de aumentos

Capítulo 1. Introducción

1.1 La piel

El sistema tegumentario está formado por la piel y sus estructuras anexas (faneras): folículos pilosos, pelo, uñas y diversas glándulas, músculos y nervios. Dicho sistema protege la integridad física y biológica del cuerpo, mantiene constante la temperatura corporal y proporciona información sensorial acerca del entorno (Figura 1).

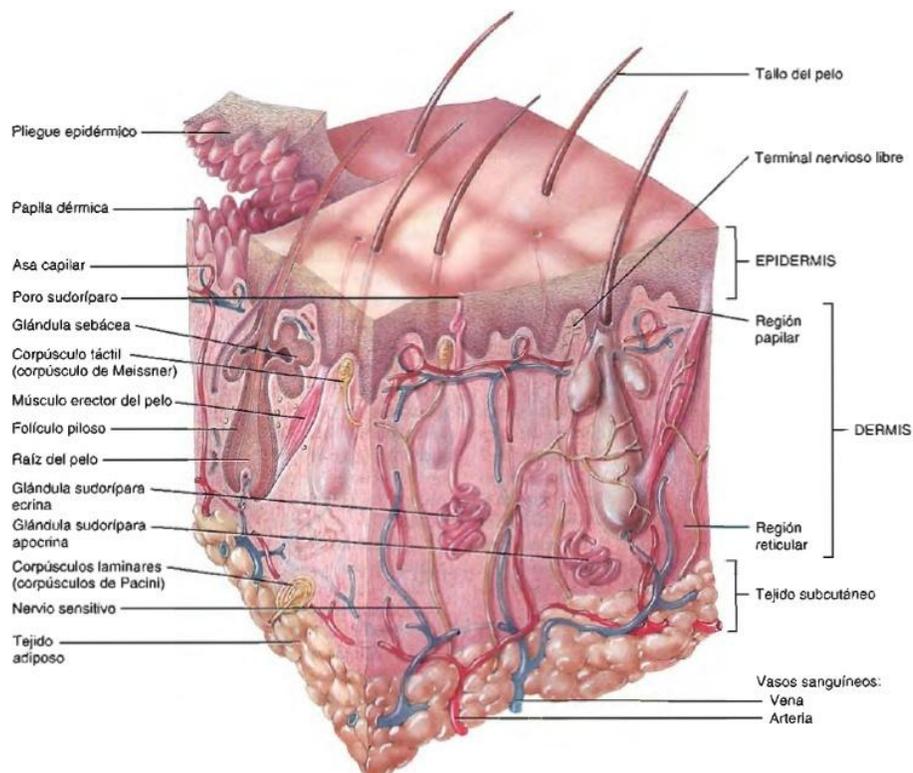


Figura 1. Corte transversal de la piel y tejido subcutáneo (Tortora, 2008).

1.1.1 Estructura de la piel

La piel está constituida por diferentes tejidos integrados para realizar funciones específicas. Es el órgano más grande del cuerpo humano en área superficial y peso. En los adultos, la piel cubre un área alrededor de 2 m² y pesa entre 4.5 a 5.0 kg, aproximadamente el 16% del peso corporal. Su grosor varía desde 0.5 mm en los párpados hasta 4.0 mm en los talones. Sin embargo, en gran parte del cuerpo mide de 1 a 2 mm.

Desde el punto de vista estructural consta de dos partes principales (Figura 2). La superficial y más delgada está compuesta por tejido epitelial y se denomina **epidermis** (epi-, de *epí*, por encima). La parte profunda y más gruesa, compuesta de tejido conectivo, es la **dermis**. Debajo de ésta, aunque sin formar parte de ella, se encuentra el tejido subcutáneo, también denominado **hipodermis** (hipo-, de *hypó*, debajo), la cual consiste en tejido areolar y adiposo (Tortora, 2008; Ross y col., 2007).

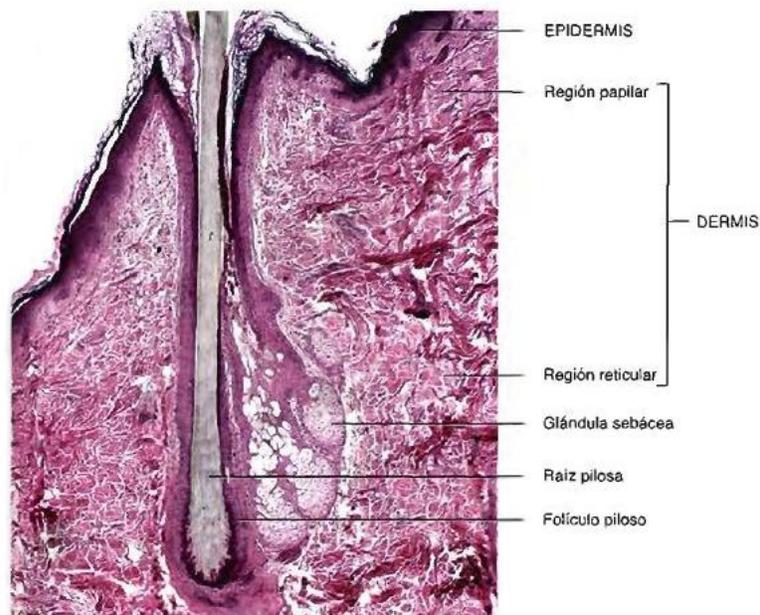


Figura 2. Corte transversal de piel. Microscopía óptica 60X, tinción HE (Tortora, 2008).

1.1.1.1 Epidermis

La epidermis está formada por epitelio plano estratificado, queratinizado y avascular. Contiene cuatro tipos principales de células (Figura 3A):

- Queratinocitos (90%)
- Melanocitos (5%)
- Células de Langerhans (3-5%)
- Células de Merkel (<0.1%)

Los queratinocitos son las células más abundantes en la epidermis, encargadas de producir queratina. Un melanocito es un tipo de célula dendrítica que produce melanina, un pigmento que contribuye al color de la piel y absorbe los rayos ultravioleta (UV) nocivos.

Las células de Langerhans derivan de la médula ósea y participan en la respuesta inmunitaria contra los microorganismos que invaden la piel. Las células de Merkel se localizan en la capa más profunda de la epidermis y participan en las sensaciones táctiles.

La epidermis está formada por distintas capas de células. En muchas partes del cuerpo, ésta tiene cuatro estratos: basal, espinoso, granuloso y córneo. Sin embargo, en las áreas donde la fricción es mayor, como en las yemas de los dedos, palmas de las manos y las plantas de los pies, la epidermis posee cinco estratos: basal, espinoso, granuloso, lúcido y córneo (Figura 3B).

El **estrato basal** o **germinativo** es el más profundo de la epidermis. Consiste en una sola hilera de células cúbicas o cilíndricas, algunas de las cuales son células madre, que entran en división celular constante para producir continuamente nuevos queratinocitos.

Las células están unidas entre sí por medio de desmosomas y hemidesmosomas. Contienen tonofilamentos dispersos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel (Tortora, 2008; Ross, 2007).

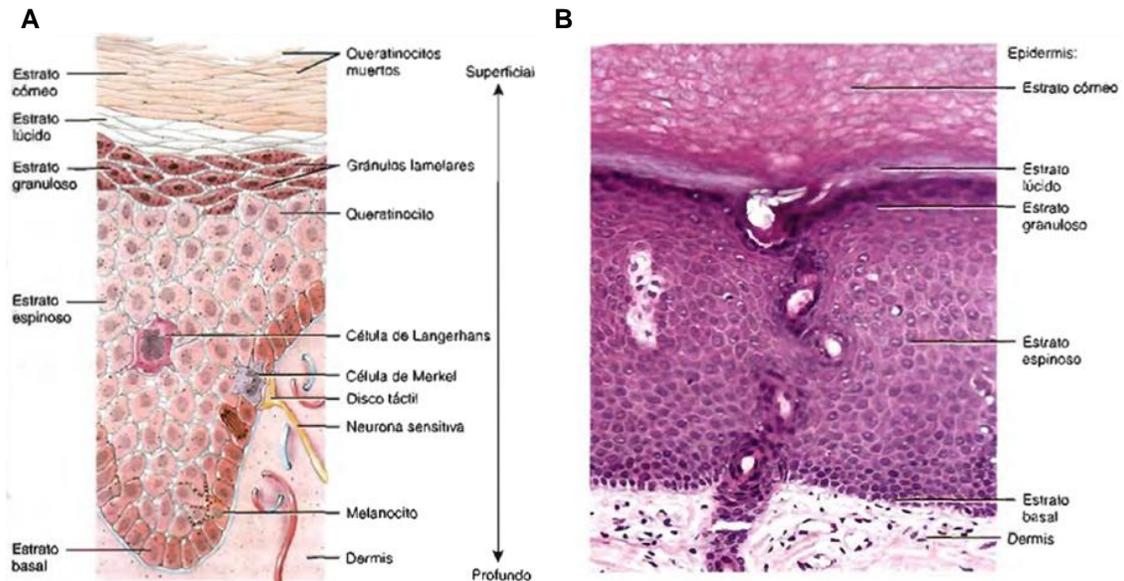


Figura 3. Estructura de la epidermis. A) Principales tipos de células epidérmicas; B) Microfotografía de una porción de piel, 240X, tinción HE (Tortora, 2008).

Encima del estrato basal se halla el **estrato espinoso**, donde se encuentran de ocho a diez capas de queratinocitos poligonales estrechamente unidas, los núcleos son redondos y el citosol es de características basofílicas. También se observan prolongaciones de células de Langerhans y melanocitos.

Localizado en la parte central de la epidermis, **el estrato granuloso**, consta de tres a cinco capas de queratinocitos aplanados que sufren apoptosis. El citosol contiene gránulos basófilos denominados gránulos de queratohialina, una sustancia precursora de la queratina.

El **estrato lúcido** se encuentra sólo en la piel de las yemas de los dedos, palmas de las manos y plantas de los pies. Consta de tres a cinco capas de queratinocitos transparentes, planos y muertos, que contienen grandes cantidades de queratina.

La capa más externa de la epidermis se denomina **estrato córneo**, la cual está constituida por 25 a 30 capas de células planas queratinizadas anucleadas y muertas, llamadas células córneas o corneocitos, compuesta principalmente por queratina.

Estas células se desprenden (descaman) continuamente y son reemplazadas por las células de los estratos más profundos. El estrato córneo sirve como barrera impermeable efectiva, también protege de lesiones y de invasión microbiana (Tortora, 2008; Ross, 2007).

1.1.1.2 Queratinización y epidermopoyesis

En las células recién formadas del estrato basal, ocurre el proceso de desarrollo llamado queratinización. Estas células se van desplazando lentamente hacia la superficie, conforme se desplazan, los queratinocitos van acumulando queratina al pasar de una capa epidérmica a otra. Posteriormente experimentan apoptosis. Finalmente, las células queratinizadas se desprenden y son reemplazadas por otras de capas subyacentes, que a su vez se convierten en queratinizadas.

El proceso completo por el cual las células del estrato basal ascienden hacia la superficie, se queratinizan y se desprenden, lleva aproximadamente 4 semanas. La velocidad de división celular en el estrato basal se incrementa cuando la epidermis pierde sus capas más externas, como ocurre en abrasiones y quemaduras.

Aunque no se conocen del todo los mecanismos que regulan esta proliferación celular, proteínas del tipo hormonal como el factor de crecimiento epidérmico (EGF, por sus siglas en inglés) desempeñan un papel importante, así como también depende de diversas moléculas estimuladoras e inhibidoras (Portas *et al.*, 2002; Tortora, 2008).

Tabla 1. Factores estimuladores e inhibidores del proceso de queratinización y epidermopoyesis (Portas *et al.*, 2002).

Factores estimuladores	Factores inhibidores
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	Factor de crecimiento de transformación beta (TGF- β)
Factor de crecimiento de transformación alfa (TGF- α)	Interferon gamma y alfa (IFN- γ , INF- α)
Factor de crecimiento de los queratinocitos (KGF)	Factor de necrosis tumoral (TNF)
Interleucina-1- α (IL-1 α)	Chalonas
Factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF)	Glucocorticoides
GMPc	
Andrógenos (testosterona)	
Vitamina A	
Eicosanoides y leucotrienos	
Poliaminas: espermidina, putrescina y espermina	

1.1.1.3 Dermis

La capa profunda de la piel es la dermis, compuesta principalmente por tejido conectivo que contiene colágeno y abundantes fibras elásticas, que se disponen de forma paralela y que le dan a la piel la consistencia y elasticidad característica. En la dermis se encuentran; vasos sanguíneos, nervios, glándulas y folículos pilosos. Así como algunos fibroblastos, macrófagos y adipocitos. De acuerdo con su estructura tisular, la dermis se divide en dos capas; una papilar superficial y una reticular profunda.

La región papilar es la porción superficial de la dermis y le corresponde una quinta parte del grosor total de la dermis. Constituida por tejido conectivo laxo, fibras de colágeno tipo III con fibras elásticas; contiene papilas dérmicas que albergan capilares, corpúsculos del tacto o de Meissner y terminales nerviosas libres.

La parte profunda de la dermis es la región reticular. Formada por tejido conectivo irregular denso con haces de colágeno tipo I y algunas fibras elásticas gruesas. Los espacios libres entre las fibras presentan células adiposas, folículos pilosos, nervios, glándulas sebáceas y sudoríparas. Debajo de la dermis reticular pueden

encontrarse capas de tejido adiposo, músculo liso y en algunos sitios músculo estriado (Tortora, 2008).

1.1.1.4 Tejido celular subcutáneo o hipodermis

Se encuentra localizado debajo de la dermis y está compuesto de tejido conectivo laxo y tejido adiposo. Ésta capa cumple una función importante de almacenamiento de energía y también sirve como aislante (Tortora, 2008).

1.1.2 Funciones de la piel

La piel ayuda a regular la temperatura corporal, sirve como barrera protectora e impermeable entre el entorno y los tejidos internos, contiene terminaciones nerviosas sensoriales, excreta pequeñas cantidades de sales y varios compuestos orgánicos; además, puede absorber sustancias y participa en la síntesis de la forma activa de la vitamina D.

Sin embargo, algunas de estas funciones vitales pueden verse interrumpidas cuando se genera un daño sobre la piel, como cuando se produce una herida (Tortora, 2008; Ross, 2006).

1.2 Heridas

La herida es el área donde queda interrumpida la continuidad tanto anatómica, como celular de las cubiertas externas del cuerpo (piel), de revestimiento mucoso o de la superficie de los órganos. Una lesión tisular es el común denominador de toda herida que afecta al organismo en diversas formas, incluyendo pérdida local de fluidos, dolor y liberación de productos celulares hacia la circulación, que inician la respuesta postraumática neuroendócrina y metabólica para favorecer la curación (Rivera, 2004).

1.2.1 Proceso de curación de heridas cutáneas

Cuando se ve afectada la integridad o la continuidad de la piel, se inicia una secuencia de procesos de reparación que la llevan a recuperar su estructura y su

función normales (o cercanas a la normalidad). Existen dos tipos de curación de las heridas, según la profundidad de la lesión. La correspondiente a heridas epidérmicas cuando sólo se afecta ésta capa, mientras que en caso de las heridas profundas, este proceso tiene lugar si la dermis o el tejido subcutáneo son dañados (Tortora, 2008).

1.2.1.1 Curación de heridas epidérmicas

La reparación de la epidermis comprende la proliferación de los queratinocitos basales en el estrato germinativo de los sitios no dañados que rodean la herida. Entonces las células crecen y migran a través de la lesión (Figura 4A).

Las células migran en forma de una lámina, hasta que se encuentran con las células que avanzan desde el lado opuesto de la herida. Al ocurrir esto último, se interrumpe la migración como consecuencia de una respuesta celular llamada inhibición por contacto. La migración de las células epidérmicas cesa por completo cuando cada célula queda en contacto con otras células epidérmicas a su alrededor.

Mientras que las células basales epidérmicas migran, una hormona llamada factor de crecimiento epidérmico estimula a las células madre basales a dividirse y reemplazar a aquellas que migraron hacia el centro de la herida. Las células basales epidérmicas reubicadas se dividen para construir estratos nuevos y engrosan la epidermis nueva (Figura 4B). Los tipos comunes de heridas epidérmicas son las abrasiones y las quemaduras menores.

En los casos en los que se pierde todo el espesor de la epidermis, a causa de un traumatismo, las partes más profundas de los folículos pilosos y de las glándulas que perduran como islotes de células epiteliales en la dermis proliferan para producir células que migran sobre la superficie expuesta para restablecer una capa epitelial (epidérmica) completa. La destrucción masiva de todas las estructuras epiteliales de la piel, como ocurre en las quemaduras de tercer grado,

impide la reepitelización. Estas heridas solo pueden curarse con injertos de epidermis que cubran la región lesionada. Sin un injerto, en el mejor de los casos la herida se reepitelizará con lentitud y de manera imperfecta por proliferación celular desde sus bordes (Tortora, 2008).

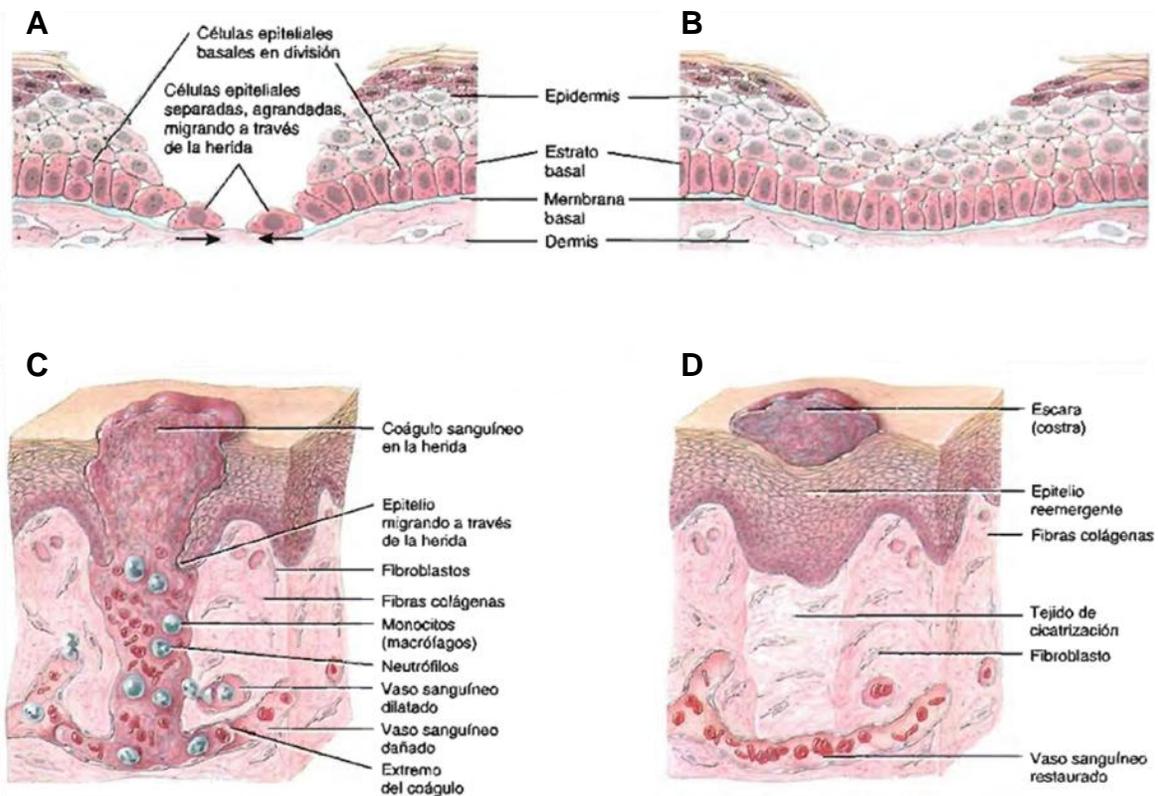


Figura 4. Curación de las heridas de la piel. A) División de células epiteliales basales y migración a través de la herida; B) Engrosamiento de la epidermis; C) Fase inflamatoria; D) Fase de maduración (Tortora, 2008).

1.2.1.2 Curación de heridas profundas

La curación de heridas profundas se produce cuando la lesión se extiende hasta la dermis y el tejido subcutáneo. Puesto que deben repararse varias capas tisulares, el proceso de curación es más complejo que en las heridas epidérmicas. Además como se forma tejido cicatrizal, el tejido reparado pierde una parte de sus funciones normales. Este proceso abarca cuatro fases: inflamatoria, migratoria, proliferativa y de maduración.

Durante la **fase inflamatoria** se forma un coágulo sanguíneo sobre la herida que une laxamente sus bordes. Como su nombre lo indica, esta fase involucra la inflamación, una respuesta vascular y celular que ayuda a eliminar materiales extraños, microorganismos y tejido muerto para preparar la reparación. La vasodilatación y la permeabilidad aumentada de los vasos sanguíneos asociadas con la inflamación, estimulan la llegada de neutrófilos, que se diferencian en macrófagos y fagocitan microorganismos, y células mesenquimatosas, que se diferencian en fibroblastos. Las tres fases que siguen son las que corresponden a la reparación propiamente dicha de la herida.

En la **fase migratoria**, el coágulo se convierte en una escara o costra y las células epiteliales migran por debajo de ésta para cubrir la herida. Los fibroblastos migran a lo largo de haces de fibrina y empiezan a sintetizar tejido cicatrizal (fibras colágenas y glucoproteínas), así como la formación de nuevos vasos sanguíneos. Durante esta fase el tejido que llena la herida se denomina tejido de granulación. La **fase proliferativa** se caracteriza por la proliferación de células epiteliales bajo la costra, el depósito al azar de fibras colágenas por los fibroblastos y el continuo desarrollo de vasos sanguíneos. Finalmente, durante la **fase de maduración** la escara se desprende una vez que se ha recobrado el grosor normal de la epidermis. Las fibras de colágeno se vuelven más organizadas, disminuye el número de fibroblastos y los vasos sanguíneos recuperan la normalidad (Figura 4D) (Tortora, 2008).

El proceso de formación de tejido cicatrizal se denomina fibrosis. En ocasiones se forma demasiado tejido cicatrizal durante la curación de heridas profundas, esto da lugar a una cicatriz sobre elevada, es decir, por encima de la superficie normal de la epidermis. Si esta cicatriz se mantiene dentro de los límites de la herida original, se trata de una cicatriz hipertrófica. Si se extiende más allá de los límites hacia el tejido normal circundante, se constituye una cicatriz queloide. El tejido cicatrizal difiere de la piel normal en que las fibras de colágeno están organizadas más densamente, su elasticidad es menor, tiene menos vasos sanguíneos, y

puede contener o no la misma cantidad de pelo, glándulas o estructuras sensitivas que la piel sana. Dadas las disposiciones de las fibras colágenas y la escasez de vasos sanguíneos, las cicatrices suelen tener un color más claro que la piel normal (Tortora, 2008 y Ross, 2006).

Dentro de los tipos más comunes de heridas en la piel, se encuentran las quemaduras.

1.3 Quemaduras

Una quemadura es una lesión en los tejidos del cuerpo causada por la exposición a diversos factores (físicos, químicos o biológicos) que puede originar alteraciones locales o sistémicas (Lovesio *et al.*, 2006).

1.3.1 Clasificación de las quemaduras

Existen varias clasificaciones de las quemaduras en función de diversos criterios: el agente que las produce, la extensión de la superficie quemada, la profundidad y la localización de dichas lesiones (Schwartz *et al.*, 2008; Lovesio *et al.*, 2006).

1.3.1.1 Clasificación de las quemaduras en función del agente productor

- Térmicas
 - Llama
 - Sólidos calientes
 - Líquidos calientes
 - Frío
- Eléctricas
- Químicas
- Por radiación
- Biológicas

1.3.1.2 Clasificación de las quemaduras según la profundidad

Existen diferentes clasificaciones de acuerdo a la profundidad, una de las más empleadas es la propuesta por Converse-Smith que han clasificado a las quemaduras en diferentes grados (Figura 5A).

1.3.1.3 Clasificación de Converse-Smith

- **Primer grado**

Las quemaduras de primer grado afectan exclusivamente la epidermis, donde la membrana basal se encuentra íntegra y no hay lesión en la dermis. Clínicamente se caracterizan por la presencia de eritema con flictenas o ampollas pequeñas intraepidérmicas. La lesión es seca y dolorosa al tacto. La regeneración es *ad integrum* sin secuelas y no entra en el cálculo de la extensión total de una quemadura. A este tipo pertenecen las quemaduras solares (Figura 5B).

- **Segundo grado**

Las quemaduras de segundo grado pueden ser superficiales o profundas. La quemadura de segundo grado superficial se caracteriza porque la lesión afecta a la epidermis y a la dermis superficial o papilar. Es dolorosa, con aparición de ampollas, lecho sonrosado y húmedo. Queda viable un gran grosor de dermis donde hay abundantes fibras de colágeno y elastina, y donde quedan numerosos anexos cutáneos (folículos pilosebáceos) rodeados de queratinocitos. Por lo tanto, ésta quemadura tiene un gran poder de reepitelización y la cicatriz resultante será de buena calidad.

La quemadura de segundo grado profundo se caracteriza porque la lesión llega hasta la dermis profunda o reticular y queda muy poca dermis residual, pocos anexos cutáneos y consecuentemente, pocos queratinocitos. Hipoestésica, sin ampollas, lecho blanquecino y seco. Tiene escaso poder de reepitelización y la calidad de la cicatriz resultante será mala.

- **Tercer grado**

Se caracterizan por la lesión o pérdida completa de toda la dermis. Anestésica, blanquecina o amarillenta, con vasos trombosados, seca. No tiene capacidad de reepitelización espontánea y la cicatriz será de mala calidad (Schwartz *et al.*, 2008).

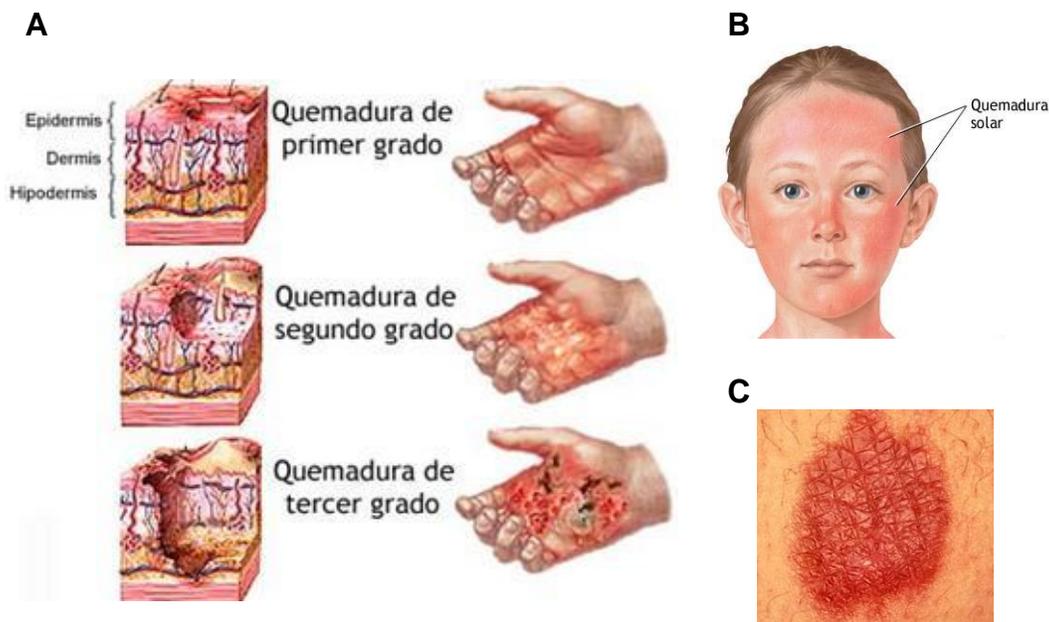


Figura 5. Clasificación de las quemaduras. A) Clasificación según Converse-Smith (<http://www.primerosauxilios.org/>); B) Quemadura solar de primer grado (<http://emssolutionsint.blogspot.mx/>); C) Acercamiento de una quemadura térmica de primer grado (<http://m.medlineplus.gov/>).

Otra clasificación ampliamente utilizada para valorar la profundidad de las quemaduras, es la de Benaim-Artigas, que divide a las quemaduras en tres tipos.

1.3.1.4 Clasificación de Benaim-Artigas

- **Quemaduras tipo A**

Afectan la epidermis y en ocasiones la dermis papilar, pudiendo dividirse en 2 tipos:

-Las **quemaduras tipo A eritematosas**: hay vasodilatación del plexo dérmico superficial, observándose la piel enrojecida y seca. Hay irritación de las terminaciones nerviosas que producen escozor, prurito y dolor. La conservación de la capa germinativa permite la epitelización en 7 a 10 días.

-Las **quemaduras tipo A flictenulares**: donde además de la vasodilatación, se produce un aumento de la permeabilidad del plexo dérmico superficial, con formación de flictenas y edema. Existe eritema cutáneo y las lesiones son muy dolorosas. Reepitelizan en 10 a 14 días.

- **Quemaduras tipo AB**

Existe destrucción de la epidermis y de la dermis papilar, conservándose la dermis reticular y las porciones profundas de los anexos cutáneos. El plexo dérmico superficial se trombosa y el profundo se encuentra vasodilatado y con aumento de la permeabilidad. La piel lesionada adquiere un color blanquecino y luego de unos 10 días se forma una escara intermedia. Las terminaciones nerviosas superficiales también se encuentran comprometidas, por lo que, son poco dolorosas. La reparación puede tener dos caminos, algunas epitelizarán luego de 14 a 21 días, aunque el epitelio suele ser frágil y el resultado estético es irregular; otras sin embargo, evolucionan hacia la profundización (Lovesio *et al.*, 2006; Schwartz *et al.*, 2008 y P.A.U.E., 2000).

- **Quemaduras tipo B**

Existe destrucción total de la piel incluyendo anexos cutáneos y las terminaciones nerviosas, se presenta trombosis de los plexos dérmicos (superficial y profundo). La piel está acartonada, dura, sin turgencia y tiene un color blanco grisáceo, originando una escara.

En la Tabla 2 se muestra una comparación entre las diferentes clasificaciones de las quemaduras, de acuerdo a su profundidad (Lovesio *et al.*, 2006; Schwartz *et al.*, 2008 y P.A.U.E., 2000).

Tabla 2. Comparación entre las diferentes clasificaciones de las quemaduras de acuerdo a su profundidad (Lovesio *et al.*, 2006; Schwartz *et al.*, 2008 y P.A.U.E., 2000).

Converse-Smith	Benaim-Artigas	Otros	Características microscópicas	Características macroscópicas
Primer grado	A eritematosas	Epidérmicas (tipo I)	Destrucción de la epidermis	Eritematosa No exudativa Sin flictenas o ampollas Hiperestesia Curación espontánea 7-10 días
Segundo grado superficial	A flictenulares	Dérmicas superficiales (tipo II a)	Destrucción de la epidermis y de la dermis superficial	Flictenas Lecho sonrosado y húmedo Conserva folículos pilosebáceos Hiperestesia Curación espontánea 10-14 días
Segundo grado profundo	AB	Dérmicas profundas (tipo II b)	Daño en la epidermis y dermis	Sin flictenas Lecho blanquecino y seco No conserva folículos pilosebáceos Hipoestesia Tratamiento quirúrgico con secuelas
Tercer grado	B	Subdérmicas superficiales (tipo III) Subdérmicas profundas (tipo IV)	Destrucción de todo el espesor de la piel y zonas profundas	Negrucza, blanquecina o amarillenta Vasos trombosados Pérdida de la sensibilidad y anestesia Tratamiento quirúrgico con secuelas importantes

1.3.1.5 Clasificación de las quemaduras según su gravedad

La gravedad de una quemadura está determinada por la profundidad y la extensión del área afectada, así como, por la edad del paciente y su estado general de salud.

1.3.1.6 Extensión de superficie quemada

La extensión se expresa como porcentaje de superficie corporal quemada (SCQ). Existen varias formas descritas para evaluar la extensión de una quemadura. Las más utilizadas son la regla del 9% de Pulazky-Tennisson, también denominada regla de Wallace o de los 9 (Figura 6). Según la cual el cuerpo humano se divide en 11 regiones, teniendo la misma extensión todas ellas, es decir 9% y la zona correspondiente a los genitales tendría un 1% y la regla de la palma de la mano (que corresponde aproximadamente al 1% de la superficie corporal del paciente), para calcular rápida y fácilmente la extensión en quemaduras aisladas.

Otras formas, como la Tabla de Lund-Browder y Dubois se usa en grandes centros de quemados (Lovesio *et al.*, 2006; Schwartz *et al.*, 2008 y P.A.U.E., 2000).

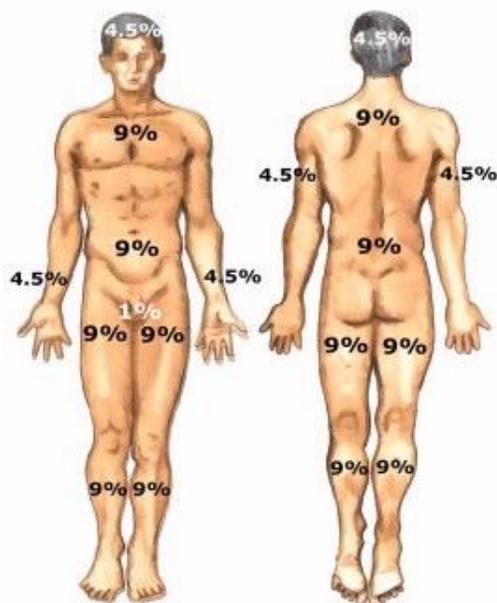


Figura 6. Regla de los 9 (Pulazky-Tennisson) para determinar la extensión de una quemadura

(<http://atenciondepacientesquemados.blogspot.mx>).

1.3.1.7 Clasificación de la Asociación Americana de Quemaduras

Con base en los criterios antes descritos, la Asociación Americana de Quemaduras, ABA (del inglés, American Burn Association), ha clasificado las lesiones por quemaduras en leves, moderadas y graves, como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Clasificación de la Asociación Americana de Quemaduras (Lovesio *et al.*, 2006; Schwartz *et al.*, 2008 y P.A.U.E., 2000).

Tipo de quemadura	Criterio
Quemadura leve o menor	15% de SCQ o menos de 1° o 2° grado en adultos 10% de SCQ o menos de 1° o 2° grado en niños 2% SCQ o menos de 3° grado en niños o adultos (que no afecten ojos, orejas, cara o genitales)
Quemadura moderada	15-25% de SCQ de 2° grado en adultos 10-20% de SCQ de 2° grado en niños 2-10% de SCQ de 3° grado en niños o adultos (que no afecten ojos, orejas, cara o genitales)
Quemadura grave o mayor	> 25% de SCQ de 2° grado en adulto > 20% de SCQ de 2° grado en niños > 10% de SCQ de 3° grado en niños o adultos Todas las quemaduras que involucren ojos, oídos, orejas, cara, mano, pies, periné y genitales. Todas las lesiones inhalatorias con o sin quemaduras. Quemaduras eléctricas. Pacientes de alto riesgo; diabetes, embarazo, EPOC, cáncer, etc. Pacientes psiquiátricos.

SCQ = superficie corporal quemada, EPOC = enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

1.3.2 Tratamiento de las quemaduras

1.3.2.1 Tratamiento del Quemado grave

Si el paciente presenta quemaduras importantes, según los criterios de gravedad antes descritos, se requerirá la hospitalización en una unidad de quemados. No obstante para los fines de este trabajo, se enfocará en el tratamiento de las quemaduras menores (Gómez, 2007).

1.3.2.2 Tratamiento del Quemado leve

Si por las características, extensión y localización de las quemaduras, éstas se pueden tratar ambulatoriamente, el tratamiento local consistirá en lo siguiente.

Pasos para tratar las quemaduras menores (P.A.U.E., 2000):

- Separar al paciente del agente etiológico.
- Retirar la ropa, anillos y joyas si se precisa.
- Lavar con suero fisiológico o con agua tibia, durante 20 minutos, temperatura tibia (agua fría provocaría vasoconstricción y puede empeorar la extensión y la profundidad de la lesión).
- Limpiar la quemadura con agua y jabón.
- Tratamiento de las flictenas.
- Plantear la necesidad de un antibiótico tópico.
- Plantear la necesidad de un apósito.
- Vacunación antitetánica si se precisa.
- Terapia analgésica si se precisa. Se pueden utilizar los analgésicos habituales, como paracetamol, AINES y metamizol.
- Uso de antibiótico oral si se precisa.

1.3.2.3 Tratamiento de aplicación tópica en quemaduras menores

Para el tratamiento de acción tópica en las quemaduras menores, se pueden usar diferentes productos, tal como se ejemplifica a continuación en la Tabla 4 (P.A.U.E., 2000; Schwartz *et al.*, 2008 y PLM, 2013).

Tabla 4. Tratamiento de aplicación tópica en quemaduras menores.

Tipo de quemadura	Agente Causal	Tratamiento local
Primer grado o tipo A eritematosa	Sol Fogonazo menor Líquidos calientes	Cremas hidratantes (con urea y ácido láctico). Corticosteroides tópicos. Refrigeración de la zona: Hidrogeles, Burnshield [®] , Brûlestop [®] y WaterJel [®] , SunBurnJel [®] , Burnaid [®] Geles emolientes: <i>Aloe vera</i> . Remedios herbolarios: pomada de Tepezcohuite, Sábila (<i>Aloe vera</i>), Caléndula.
Segundo grado superficial o tipo A flictenular	Líquidos calientes Deflagración o llamas Exposición a sustancias químicas diluidas	Aplicación local de sulfadiazina argéntica al 1% ó nitrofurazona al 0.2%. Cicatrizantes: Italdermol [®] , Fitoestimulina [®] , Recoveron [®] . Remedios herbolarios: pomada de Tepezcohuite, Sábila (<i>Aloe vera</i>), Caléndula.

Como se mencionó, en el tratamiento de quemaduras menores, se suele utilizar medicamentos, como antibióticos, antiinflamatorios, cicatrizantes y analgésicos, así como remedios herbolarios de aplicación tópica.

Por este motivo es necesario definir y diferenciar a cada uno de estos productos.

1.4 Productos de aplicación tópica

La aplicación de sustancias medicinales sobre la piel es sin duda un concepto tan antiguo como la humanidad. Los papiros del antiguo Egipto describen una variedad de esas medicaciones para uso externo (Gennaro, 2003).

Se le denomina vía de administración a la ruta que se elige para administrar un medicamento, un cosmético o un remedio herbolario a un individuo (NOM-072-SSA1, 2012). En la vía de administración tópica, los productos se aplican directamente sobre la piel y las mucosas. La característica de esta vía es que se busca fundamentalmente el efecto a nivel local, no interesando tanto la absorción de los principios activos (Gennaro, 2003).

Dentro de los productos de aplicación tópica se encuentran los medicamentos, los cosméticos y los remedios herbolarios.

1.4.1 Medicamentos

De acuerdo a la Ley General de Salud vigente de México (LGS), en su Título Décimo Segundo “Control sanitario de productos y servicios de su importación y exportación”, en el Capítulo IV Medicamentos, Artículo 221. Se entiende por medicamento, a toda sustancia o mezcla de sustancias de origen natural o sintético que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica y se identifique como tal por su actividad farmacológica, características físicas, químicas y biológicas (LGS, 2014).

1.4.2 Fitofármacos

La fitoterapia es el uso medicinal de algunas especies vegetales, también se puede definir como el empleo de las plantas con fines curativos. Los fitofármacos en términos generales son medicamentos que contienen como principio activo exclusivamente plantas, partes de plantas, ingredientes vegetales o bien, preparaciones obtenidas a partir de ellas (Romero, 2004).

La LGS define el fitofármaco o “medicamento herbolario” como: “Los productos elaborados con material vegetal o algún derivado de éste, cuyo ingrediente principal es la parte aérea o subterránea de una planta o extractos y tinturas, así como jugos, resinas, aceites grasos y esenciales, presentados en forma farmacéutica, cuya eficacia terapéutica y seguridad ha sido confirmada científicamente en la literatura nacional o internacional” (LGS, 2014).

1.4.3 Remedios herbolarios

Con respecto a los remedios herbolarios, el Reglamento de Insumos para la Salud (RIS), en su Título Tercero “Remedios Herbolarios”, Capítulo Único. El Art. 88, considera como remedio herbolario al preparado de plantas medicinales, o sus partes, individuales o combinadas y sus derivados, presentado en forma farmacéutica, al cual se le atribuye por conocimiento popular o tradicional, el alivio para algunos síntomas participantes o aislados de una enfermedad (LGS, 2014).

En los últimos años, la industria farmacéutica se ha volcando hacia el uso de los remedios herbolarios, esto es debido a que los requerimientos administrativos de desarrollo y comercialización de los remedios herbolarios son muy inferiores a los que se requieren para un producto farmacéutico.

Como se ha mencionado, los productos de aplicación tópica se administran sobre la piel o mucosas, ya sea con fines terapéuticos o cosméticos, en formas farmacéuticas de diversa naturaleza fisicoquímica, como por ejemplo; lociones, pomadas, cremas, pastas, geles, parches, entre otros.

En la elección de la forma farmacéutica para la aplicación tópica deben considerarse varios factores. La estabilidad y propiedades fisicoquímicas del principio activo, el uso específico del producto, el sitio de aplicación y el tipo de producto deben ser combinados en un vehículo que libere fácilmente al principio activo cuando sea puesto en contacto con la piel (Gennaro, 2003).

Tomando en cuenta las consideraciones anteriores, a continuación se enuncian las características de la forma farmacéutica propuesta en este trabajo.

1.5 Geles

El uso de los geles en la industria farmacéutica, así como en la cosmética se ha incrementado debido a que satisfacen una exigencia en las preparaciones de aplicación tópica, ya que, en general presentan buena adherencia, alto grado de claridad, facilidad de aplicación, remoción y uso. Así como, proveen una liberación más rápida del principio activo en comparación con las cremas y pomadas. (Gennaro, 2003; Fitzpatrick *et al.*, 2009).

1.5.1 Definición

Desde el punto de vista químico, un gel es un sistema coloidal donde la fase continua es sólida y la discontinua es líquida, constituidos por una red tridimensional de cadenas flexibles interconectadas e interpenetradas por el líquido.

Presentan una densidad similar a los líquidos, sin embargo, su estructura se asemeja más a la de un sólido (Leppard, 1994).

En la industria farmacéutica los geles son formas farmacéuticas de consistencia semisólida, destinados a ser aplicados sobre la piel o membranas mucosas con el fin de ejercer acción local (Gennaro, 2003).

De acuerdo a esto, la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, FEUM, definió gel como: “una preparación semisólida que contiene él o los principios

activos y aditivos, sólidos en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite de tal manera que se forma una red de partículas atrapadas en la fase líquida” (FEUM, 2004).

Así mismo, la Farmacopea de Estados Unidos, USP (del inglés, United States Pharmacopeia), definió a los geles como: “sistemas semisólidos compuestos que consisten por partículas inorgánicas pequeñas o moléculas orgánicas grandes interpenetradas por un líquido” (USP, 2008).

1.5.2 Propiedades fisicoquímicas de los geles

La estructura de un gel depende de sus propiedades, por eso es necesario definir algunas de ellas, las cuales se muestran en la Tabla 5:

Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de los geles (Juvé *et al.*, 2007 y Gennaro, 2003).

Propiedad	Descripción
Imbibición	Es la capacidad de absorber líquido, hinchamiento. El líquido penetra en la matriz del gel y aumenta su volumen. Se presenta en los geles elásticos.
Sinéresis	Es la liberación espontánea del líquido intersticial por un gel, cuando este se contrae durante el reposo. Representa un problema en la estabilidad de los geles.
Tixotropía	Es la designación dada para el fenómeno en el cual un coloide cambia su viscosidad de su estado de gel para sol o sol para gel.
Viscosidad	Es la resistencia que ofrece cuando se aplica una fuerza que tiende a deformarlos.

1.5.3 Clasificación de los geles

Los geles se pueden clasificar con base en sus diferentes propiedades, tal como se muestra en la Tabla 6:

Tabla 6. Clasificación de los geles de acuerdo a sus propiedades (Juvé *et al.*, 2007; Cortés, 2009 y Gennaro, 2003).

Propiedad	Clasificación	Descripción	
Comportamiento frente al agua	Hidrófilos ó hidrogeles	Constituido por agua, glicerina, propilenglicol u otros líquidos hidrofílicos. Gelificados por sustancias de tipo poliméricas, goma tragacanto, almidón, derivados de la celulosa, polímeros carboxílicos o silicatos de aluminio y magnesio.	
	Hidrófobos, oleogeles ó lipogeles	Son aceites gelificados mediante la incorporación de aditivos reológicos lipófilos. Las bases por lo general consisten en parafina líquida adicionada de polietileno o por aceites grasos gelificados por anhídrido silícico coloidal. Son vehículos oleosos oclusivos. Tienen una mejor termoestabilidad y extensibilidad que los respectivos lípidos constituyentes.	
Número de fases	Monofásicos	El medio líquido lo constituye una sola fase o líquidos miscibles; agua-alcohol, solución hidroalcohólica, aceite, etc.	
	Bifásicos	TOW gel (O/W)	Geles transparentes obtenidos mediante solubilización micelar de la parte oleosa de la fórmula, un emulgente que se comporta como solubilizante. Se presentan en forma de un sistema de cristales líquidos, transparentes y viscosos que pueden incorporar activos tanto liposolubles como hidrosolubles.
		TAS gel (W/S)	Geles transparentes basados en emulsiones de siliconas, de gran aplicación cosmética.
Viscosidad	Fluidos		
	Semisólidos		
	Sólidos		
Estructura	Elásticos	Se obtienen por enfriamiento de un sol liófilo que al calentarse con agua se forma el gel. Se pueden regenerar por hidratación. Un ejemplo es la gelatina.	
	No elásticos	Un gel no elástico se hace vítreo o se pulveriza y pierde su elasticidad por secado, pueden tomar líquido sin cambio de volumen. El ejemplo más común es el gel sílice.	
Origen y/o naturaleza de los polímeros	Animal	Gelatina; se emplea para la preparación de cápsulas.	
	Mineral	Bentonita y Veegum [®] . Se utilizan en la elaboración de preparados destinados a pieles grasas.	
	Microbiano	El de mayor utilidad es la goma de xanthan.	
	Vegetal	Goma arábica, goma guar.	
	Semisintético	Derivados de la celulosa: carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, metilcelulosa. Se caracterizan por ser estables en un amplio margen de pH, poseen cierta incompatibilidad con metales, dejan residuos en la piel, adhesivos.	
	Sintético	Carbomer: es un polímero del ácido acrílico y es el más utilizado en formulación magistral. Su nombre comercial es Carbopol [®] . Tienen buena extensibilidad y transparencia, son poco adhesivos y no dejan residuos sobre la piel, son estables a pH 6-11 e incompatibles con metales y electrolitos.	

TOW = Transparent Oil in Water emulsions, TAS = Transparent Aqua Silicone emulsions, O/W = Oil-Water emulsions, W/S = water silicone emulsions.

1.5.4 Ventajas y desventajas de los geles (Juvé *et al.*, 2007).

En el campo de la dermofarmacia, se suelen utilizar los geles, en especial los hidrogeles en razón de:

- Su buena tolerancia cutánea.
- Su carácter filmógeno, pero no oclusivo.
- Su facilidad de eliminación por lavado.
- La sensación de frescor que producen al ser aplicados sobre la piel.
- Por sus características organolépticas: transparencia (que posibilita, si interesa, la visualización de microcápsulas o cristales líquidos), reología, extensibilidad, etc.
- Los geles pueden usarse para la administración de drogas en forma tópica.

En contrapartida deben señalarse algunos inconvenientes para su empleo, como son:

- La incompatibilidad con numerosos principios activos cuando estos modifican el pH final de la formulación o influyen en la estabilidad física de las preparaciones.
- La tendencia a la desecación, con la consiguiente pérdida de la textura original, ocasionada por la presencia de determinados tipos y concentraciones de electrolitos, iones metálicos y/o alcohol. Para minimizar la pérdida de agua se agregan humectantes, como el propilenglicol, la glicerina o el sorbitol.
- Su escaso poder de penetración, que circunscribe su empleo a tratamientos de acción superficial. Sin embargo, los geles proveen una liberación más rápida de la droga, independiente de su solubilidad, en comparación con las cremas o pomadas.
- Elevado “tacking” (sensación de pegajosidad al estar aplicado sobre la piel) de determinados gelificantes. Dicho efecto puede reducirse mediante la

adición a las formulaciones de diferentes sustancias tales como mezclas de aceites, siliconas, sustancias pulverizadas micronizadas, etc.

- La radiación solar puede producir despolimerizaciones del gelificante con la subsiguiente pérdida de las propiedades reológicas y texturales, por lo que, debe preverse un adecuado acondicionamiento que minimice dicho efecto (Juvé *et al.*, 2007).

1.5.5 Estabilidad de los geles

Las propiedades físicas y químicas del gel serán afectadas por el orden de adición de los reactivos, el pH, la temperatura, la concentración de los reactivos, los reactivos utilizados, así como la agitación (Gennaro, 2003).

Ya que con el tiempo los geles pueden perder su estructura, la estabilidad de un gel dependerá de su correcta formulación.

1.5.6 Elaboración de geles

Los geles pueden elaborarse de diferentes maneras, la más empleada en farmacia es a partir de agentes gelificantes o promotores de la gelación.

Los cuales suelen ser sustancias poliméricas orgánicas capaces de formar estructuras tridimensionales en medio líquido.

1.5.6.1 Agentes gelificantes

A nivel de formulación los agentes gelificantes pueden dividirse en dos tipos: polímeros pH dependientes y polímeros no pH dependientes.

- **Polímeros pH dependientes**

La formación del gel y consecución de las propiedades reológicas características del mismo dependen del pH del medio externo. Dan lugar a soluciones ácidas que

al neutralizar con las bases adecuadas, aumentan la viscosidad y disminuyen la turbidez del medio.

El mecanismo por el cual se forma el gel es el siguiente: a bajos valores de pH, se disocia una pequeña proporción de grupos carboxílicos del polímero, formando una espiral flexible. La adición de una base produce la disociación de grupos carboxílicos, ionizándose, creando repulsión electrostática entre las regiones cargadas, expandiéndose la molécula, haciendo más rígido el sistema, gelificándolo. Se pasa de una estructura espiralada a una desenrollada o extendida, ejemplo carbómero. Si se agrega un exceso de base puede producir una pérdida de viscosidad al neutralizarse los grupos carboxílicos. El agregado de electrolitos a estos geles, como por ejemplo cloruro de sodio, disminuye la viscosidad, ya que los grupos carboxílicos cargados se rodean de cationes metálicos, produciéndose una neutralización de cargas, impidiendo la formación de una matriz rígida (Juvé *et al.*, 2007; Gennaro, 2003).

- **Polímeros no pH dependientes**

La gelificación se produce con independencia del pH del medio externo (o cuando menos en un muy amplio intervalo de pH). Gelifican por sí mismos, forman puentes de hidrógeno entre el solvente y los grupos carboxílicos del polímero, formando una estructura polimérica entrelazada similar a una red de fibrillas y dejando una fase continua atrapada en los intersticios de la red (ej. derivados de celulosa).

1.5.7 Formulación de Geles

Como se mencionó anteriormente, la estabilidad de un gel dependerá de su correcta formulación, por tanto, es necesario presentar los componentes principales en la elaboración de un gel, los cuales se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Componentes principales en la formulación de un gel (Juvé *et al.*, 2007; Cortés, 2009 y Gennaro, 2003).

Aditivo	Uso	Ejemplo
Principio activo	Sustancia a la cual se debe el efecto farmacológico.	EACRA-13, <i>Aloe vera</i> , diclofenaco, pilocarpina, vitamina A, E.
Agente gelificante	Sustancias poliméricas orgánicas capaces de formar estructuras tridimensionales en medio líquido. Promueven la gelificación.	Carbopol, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa.
Agente neutralizante	Modifican la concentración de iones hidrógeno del gel. Únicamente se incorpora a la formulación de geles pH dependientes.	NaOH, trietanolamina o aminometilpropanol.
Humectantes	Evitan la evaporación del agua del preparado, evitan la desecación del producto sobre la piel y ayudan en la extensibilidad.	Glicerina, propilenglicol o sorbitol.
Conservadores	Evitan la carga microbiana.	Metilparabeno, ácido benzoico, propilparabeno, clorocresol.
Agentes quelantes	Captación de iones, que pueden provocar la disminución de la viscosidad de los productos.	Ácido cítrico, EDTA.
Otros	Colorantes, esencias, antioxidantes.	Mentol, BHT, BHA, nitritos.

EACRA-13 = extracto acuoso CRA-13, NaOH = hidróxido de sodio, EDTA = ácido etilendiaminotetraacético, BHT = butilhidroxitolueno, BHA = Butilhidroxianisol.

1.5.8 Elaboración y acondicionamiento

En principio la elaboración de formulaciones de geles es sencilla y no implica dificultad. Para preparar geles uniformes es necesario dispersar el agente gelificante de tal manera que no forme conglomerados con el agregado de agua.

A pequeña escala, su preparación requiere tiempo para garantizar la correcta imbibición del gelificante en el agua de la fórmula en la que previamente se habrá disuelto el resto de ingredientes hidrosolubles (humectantes, activos, etc.).

Si la viscosidad del gel no es elevada, el proceso puede acelerarse mediante el empleo de agitación mecánica energética; ello comportará la incorporación de aire en el preparado, que podrá eliminarse manteniendo el producto en reposo un tiempo más o menos prolongado, previo a su acondicionamiento en el envase definitivo. Para evitar la incorporación de aire y por tanto, la pérdida de una de sus

principales características organolépticas, la transparencia, se deberá trabajar bajo vacío (Gennaro, 2003).

1.5.8.1 Incorporación de activos

En la incorporación del principio activo, pueden plantearse diferentes situaciones:

- Activo soluble en el medio externo del gel (agua o soluciones hidroalcohólicas): la incorporación se realiza por disolución, previa a la incorporación a la fórmula del agente gelificante.
- Activo insoluble en el medio externo del gel así como en otros solventes hidrófilos autorizados, pero soluble en aceite u otros emolientes: la incorporación se realiza disolviendo el activo en la mínima cantidad posible del emoliente escogido e incorporando dicha solución al gel previamente formado.
- Si las características de los activos no permiten ninguna de las anteriores opciones, se deberá recurrir a la incorporación directa del mismo en el gel previamente formado, quedando dichas sustancias en suspensión, homogéneamente repartidas en toda la masa de la fórmula (Juvé *et al.*, 2007).

1.6 Desarrollo farmacéutico

El desarrollo farmacéutico es un conjunto de actividades que se realizan dentro del conocimiento de la ciencia, la tecnología y la ética profesional, destinado a obtener el máximo aprovechamiento de un medicamento (Huerta, 2004).

El desarrollo farmacéutico se lleva a cabo en diferentes etapas, como se observa en la Figura 7.

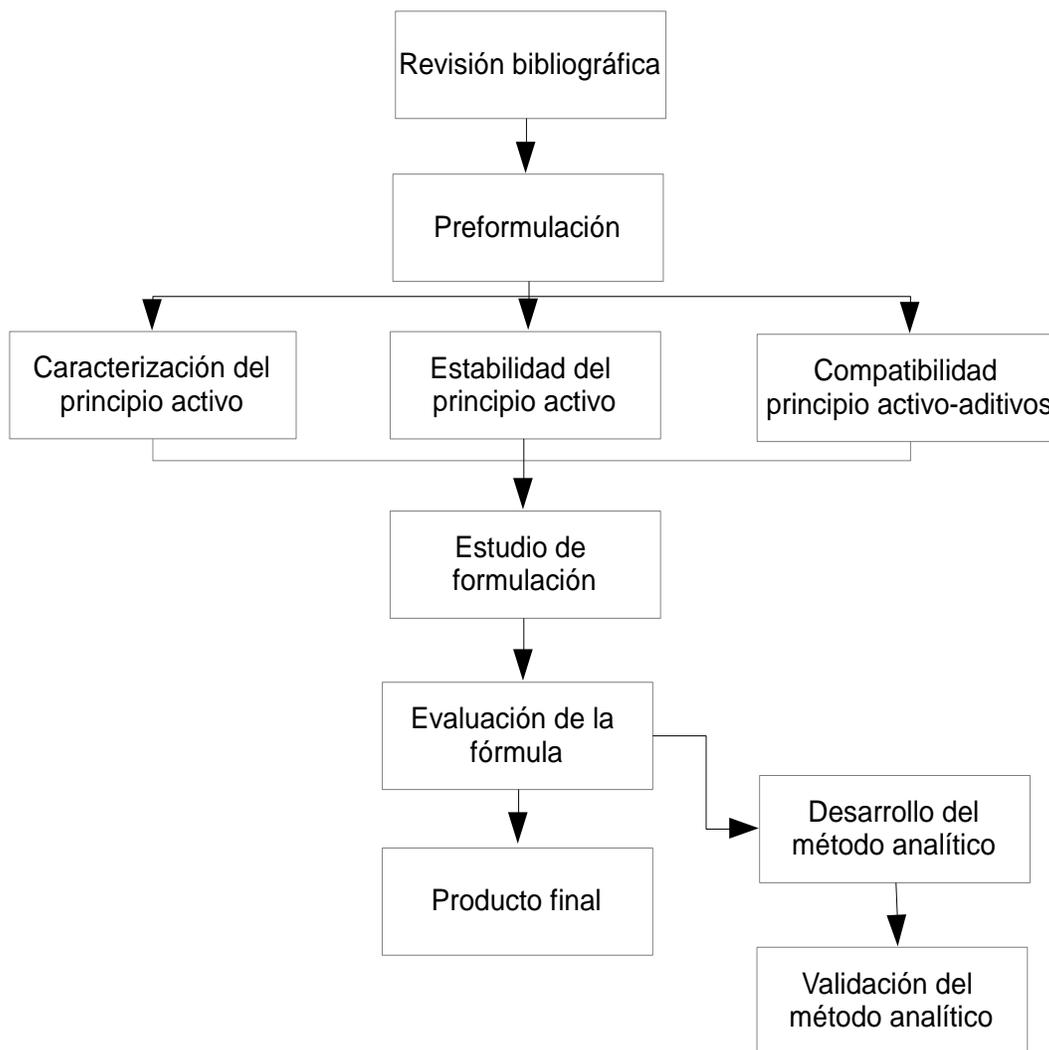


Figura 7. Diagrama de flujo del desarrollo farmacéutico (Huerta, 2004).

1.6.1 Preformulación

Se conoce como preformulación al proceso dentro del desarrollo de medicamentos que involucra la aplicación de parámetros físicos, químicos y biológicos que permitan analizar las propiedades del principio activo así como de los componentes a utilizar, con la finalidad de detectar las posibles incompatibilidades que se puedan presentar al desarrollar el producto.

La finalidad de llevar a cabo los estudios de preformulación es diseñar el mejor sistema para su aplicación dando como resultado una formulación estable, eficaz, de fácil administración y segura que además cumpla con las características deseadas y con la finalidad para la cual se desea desarrollar el producto.

Para poder realizar los estudios de preformulación es necesario primero realizar una búsqueda bibliográfica para así contar con la información necesaria que nos permita conocer las propiedades físicas, químicas, farmacológicas y toxicológicas del principio activo y de los posibles excipientes a utilizar.

La siguiente etapa en el desarrollo está conformada por los estudios de preformulación, los cuales nos permitirán comprobar las propiedades fisicoquímicas del fármaco.

Dentro del estudio de preformulación se lleva a cabo la caracterización del principio activo, pruebas de degradación y pruebas de compatibilidad del fármaco con los excipientes, estas pruebas nos proporcionaran la información necesaria para llevar a cabo la formulación más adecuada así como la elección del proceso de manufactura más viable (Huerta, 2004).

1.6.2 Formulación

En esta etapa se lleva a cabo la selección de los excipientes, la cual se debe de realizar tomando en consideración la información derivada de los estudios de

preformulación. Dentro de esta etapa también se realiza la selección de la forma farmacéutica a desarrollar, así como del proceso de manufactura más adecuado.

1.6.3 Evaluación

La importancia de esta etapa radica en que mediante ella podremos llevar a cabo la evaluación de nuestro producto con la finalidad de saber si efectivamente el producto que estamos obteniendo cumple con las características para la cual fue diseñado.

Las pruebas que se utilizan para llevar a cabo esta evaluación se apoyan en diversos métodos analíticos y de validación existentes (Huerta, 2004).

1.6.4 Estabilidad

La estabilidad es la capacidad de un producto de permanecer dentro de las especificaciones de calidad establecidas, en el envase que lo contiene durante su periodo de vida útil.

Los estudios de estabilidad por lo tanto, son pruebas que se efectúan a un producto por un tiempo determinado, bajo la influencia de temperatura, humedad o luz en el envase que lo contiene, con el objeto de documentar como estos factores afectan la calidad del producto. Así como para poder establecer las condiciones de almacenamiento y su vida útil (NOM-073-SSA1, 2005).

Capítulo 2. Justificación

Las quemaduras ocupan un lugar importante en la atención hospitalaria e intrahospitalaria. Las quemaduras son un problema significativo de salud pública en niños menores de cinco años, de las cuales el 45% de éstas ocurren en los hogares por diversas causas. Sin embargo, no existe un tratamiento farmacológico de elección para tratar quemaduras menores, en su lugar, se suele utilizar remedios caseros. Actualmente, el empleo de las plantas medicinales ha permitido establecer una fuente importante de remedios de bajo costo, accesible y que además proveen remedios curativos.

Por otro lado, es necesario contar con un modelo animal que permita reproducir las condiciones fisiopatológicas de las quemaduras para poder evaluar los efectos tópicos de diferentes agentes sobre la reparación de heridas.

Por tal motivo, el objetivo de este trabajo es evaluar un gel con el extracto acuoso CRA-13 como posible regenerador tisular en quemaduras de primer grado en ratas cepa Wistar. El gel con el extracto CRA-13 podría utilizarse en la terapéutica para proteger y optimizar el proceso de cicatrización así como brindar un ambiente óptimo necesario que preserve los principios fisiológicos básicos de humedad, calor, oxigenación y circulación sanguínea en el tejido dañado en una quemadura menor.

Capítulo 3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Evaluar si el extracto acuoso CRA-13 contenido en un gel de uso tópico posee actividad reepitelizante al ser aplicado sobre quemaduras de primer grado en ratas cepa Wistar.

3.2 Objetivos particulares

En tanto que los objetivos particulares, derivados del anterior, son los siguientes:

- Obtener el extracto acuoso CRA-13 por diferentes métodos para elegir el que presente mejor efecto.
- Determinar la CL_{50} de los extractos por medio del bioensayo en *Artemia salina* para evaluar cual presenta mayor bioactividad.
- Proponer una formulación de un gel base que pueda servir como vehículo para el extracto acuoso CRA-13.
- Obtener un gel conteniendo el extracto acuoso CRA-13 para poder evaluarlo en tejido vivo.
- Realizar pruebas de irritabilidad dérmica en piel de conejos para determinar la seguridad de uso del producto elaborado.
- Desarrollar un modelo animal que genere las condiciones fisiopatológicas de quemaduras de primer grado, así como su reproducibilidad para poder evaluar los efectos tópicos del gel con el extracto acuoso CRA-13 sobre la reparación de heridas.

Capítulo 4. Hipótesis

Dado que en la evaluación del extracto CRA-13 en estudios pilotos previos presentó un efecto inmunoestimulador, se espera por lo tanto que, tenga un efecto reepitelizante al ser evaluado en modelos de quemaduras de primer grado, en ratas cepa Wistar.

Capítulo 5. Material y Métodos

5.1 Esquema general de trabajo

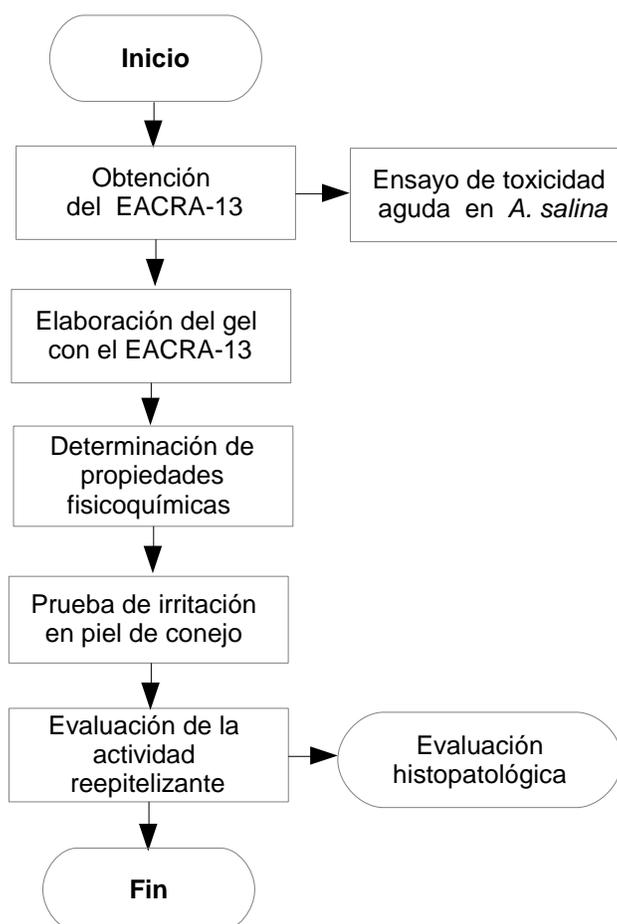


Figura 8. Diagrama general de trabajo.

5.2 Materiales

A continuación se enlistan los instrumentos, equipos y materiales utilizados en general.

5.2.1 Instrumentos, equipos y material

Tabla 8. Lista de instrumentos, equipos y materiales utilizados.

Instrumento ó equipo	Marca
Abatelenguas estériles	N/A
Agitador de vidrio	Pyrex
Agitador magnético	N/A
Algodón de curación	Zuum
Balanza analítica	OHAUS
Balanza granataria	OHAUS
Baño para tejidos eléctrico	Lipshaw
Caja de Petri	Kimax
Cámara fotográfica	Sony
Cámara para microscopio	AxioCam ERC5S
Cerillos	N/A
Cronómetro	Samsung
Cubreobjetos	Madesa
Embudo	P.K.
Espátula cromo-níquel	N/A
Estufa	N/A
Estuche de disección	Hergom
Frascos viales 5, 10, 15 mL	N/A
Gasa estéril	Protec
Horno	Felisa 375
Jabón líquido	N/A
Jeringas para insulina desechables 27G	BD Plastipak
Matraces aforados de 10,100,1000 mL	Pyrex
Microscopio óptico	Carl Seizz
Microscopio óptico	Carl Seizz Primo Star
Microtomo	Leica RM2245
Moldes de plástico para bloques de parafina	N/A
Mortero con pistilo	Kimax
Navajas para rasurar	Lobo/ Gillette
Papel aluminio	Alupak
Papel parafilm	Pechiney plastic packaging
Parrilla eléctrica	Corning
Pecera	N/A
Pipetas graduadas de 1, 5, 10 mL	Pirex/Kimax
Piseta	N/A
Pomaderas cosméticas	Droguería cosmopolita
Portaobjetos esmerilados	Madesa
Probeta de 10, 50, 100, 500 mL	Pirex/Kimax
Sonda esofágica de metal para rata (20 mm)	N/A
Tela adhesiva	N/A

Tabla 8. Lista de instrumentos, equipos y materiales utilizados (continuación).

Tubos falcon 50 mL	Corning
Vasos de precipitados de 50,100, 250, 500 y 1000 mL	Pirex/Kimax
Vidrio de reloj	Kimax
Viscosímetro	Brookfield RVT 75092

N/A = no aplica

5.2.2 Reactivos químicos

Tabla 9. Reactivos químicos utilizados.

Reactivo	Marca
Acido acexámico	Recoveron C
Agua Mili-Q	Millipore
Azul de toluidina	Merck
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	Sigma-Aldrich
Bromuro de potasio (KBr)	Sigma-Aldrich
Carbopol 940 G.R.	Quiminet
Cloruro de calcio dihidratado (CaCl ₂ .2H ₂ O)	Sigma-Aldrich
Cloruro de magnesio hexahidratado (MgCl ₂ .6H ₂ O)	Sigma-Aldrich
Cloruro de potasio (KCl)	Sigma-Aldrich
Cloruro de sodio (NaCl)	Sigma-Aldrich
Colágeno	Sigma-Aldrich
Dicromato de potasio (K ₂ Cr ₂ O ₇)	J. T. BAKER
Eosina	Sigma
Etanol	Merck
Extracto acuoso de <i>Triticum vulgare</i>	Fitoestimulina
Formaldehído	Merck
Gelatina	Sigma-Aldrich
Glicerina	Sigma-Aldrich
Hematoxilina	Merck
Medio para montaje	Cytoseal 60
Meloxicam	Flaxol
Metilparabeno	Quiminet
Parafina	N/A
PBS	N/A
Pentobarbital sódico	Sedalphorte
Propilparabeno	Quiminet
Solución salina isotónica 0.9% (SSI)	Pisa
Sulfadiazina de plata	Argentafil
Sulfato de sodio (Na ₂ SO ₄)	Sigma
Tiras reactivas de pH	HYDR101069
Trietanolamina	Merck
Vitamina A,C y E	Merck
Xilol	Merck

N/A = no aplica

5.2.3 Reactivos biológicos

5.2.3.1. Material vegetal

Material vegetal en proceso de patente, proporcionado por la M. en C. Cecilia Hernández Flores, Investigadora en Ciencias Médicas "A" del Instituto Nacional de Rehabilitación.

5.2.3.2. Animales de experimentación

Se utilizaron crustáceos de *Artemia salina* de 48 h para el bioensayo de actividad y toxicidad aguda del extracto acuoso CRA-13.

La evaluación de irritabilidad dérmica se realizó en conejos macho (*Oryctolagus cuniculus*) de raza Nueva Zelanda, sanos, con un peso de 3.0 ± 1.0 kg, sin daño en la piel.

Para evaluar la actividad reepitelizante del gel con el EACRA-13 se utilizaron ratas macho (*Rattus norvegicus*) cepa Wistar, sanas, de 300 ± 100 g de peso.

Las especies animales utilizadas fueron proporcionadas y alojadas por la unidad de Bioterio de la Facultad de Química, UNAM. Los animales se mantuvieron bajo condiciones controladas de luz, temperatura y humedad, con acceso de alimentos y agua *ad libitum*, de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO, 1999).

En la realización de este trabajo se tomaron en consideración los procedimientos éticos descritos en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, así como los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) (CENAM, 2007; NAP, 2011).

5.3 Métodos

5.3.1 Descripción macroscópica del material vegetal

Se llevó a cabo una inspección visual del material vegetal proporcionado para determinar sus características físicas (color, olor y apariencia).

5.3.2 Obtención del extracto acuoso CRA-13

La elaboración del extracto acuoso que permitió el posterior desarrollo de los geles, se realizó por dos métodos diferentes; estos fueron el método de infusión y decocción.

Para el método de infusión se pesó 8 g del material vegetal seco y molido en la balanza analítica y se depositó en una bolsa de gasa estéril, la cual se cerró con un hilo de algodón estéril. Se vertió 200 mL de agua destilada en un vaso de precipitados de 250 mL y se llevó a ebullición en la estufa. Posteriormente se colocó la bolsita con el material vegetal en un vaso de precipitado de 250 mL y se agregaron 125 mL de agua destilada en ebullición. Se dejó reposar la infusión por 1 minuto. Finalizada la infusión se retiró del agua la bolsita que contenía el material vegetal. Se dejó enfriar el extracto y se filtró por gravedad con un embudo de vidrio y papel filtro en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Finalmente se agregó agua destilada c.b.p. 160 mL, para llevar el extracto a una concentración de [50 mg/mL], correspondientes a 50 mg de material vegetal por mL de agua.

Para el método de decocción se pesó en la balanza analítica 8 g del material vegetal seco y molido y se depositó en una bolsa de gasa estéril. Se colocó la bolsita con el material vegetal en un vaso de precipitado de 250 mL y se agregaron 125 mL de agua destilada. Se colocó el vaso de precipitado sobre la estufa, se llevó a ebullición y se dejó hervir por 1 minuto. Finalizada la decocción se retiró del agua la bolsita que contenía el material vegetal. Se dejó enfriar el extracto y se filtró por gravedad con un embudo de vidrio y papel filtro en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Finalmente se agregó agua destilada c.b.p. 160

mL, para llevar el extracto a una concentración de [50 mg/mL], como se muestra en la Figura 9.

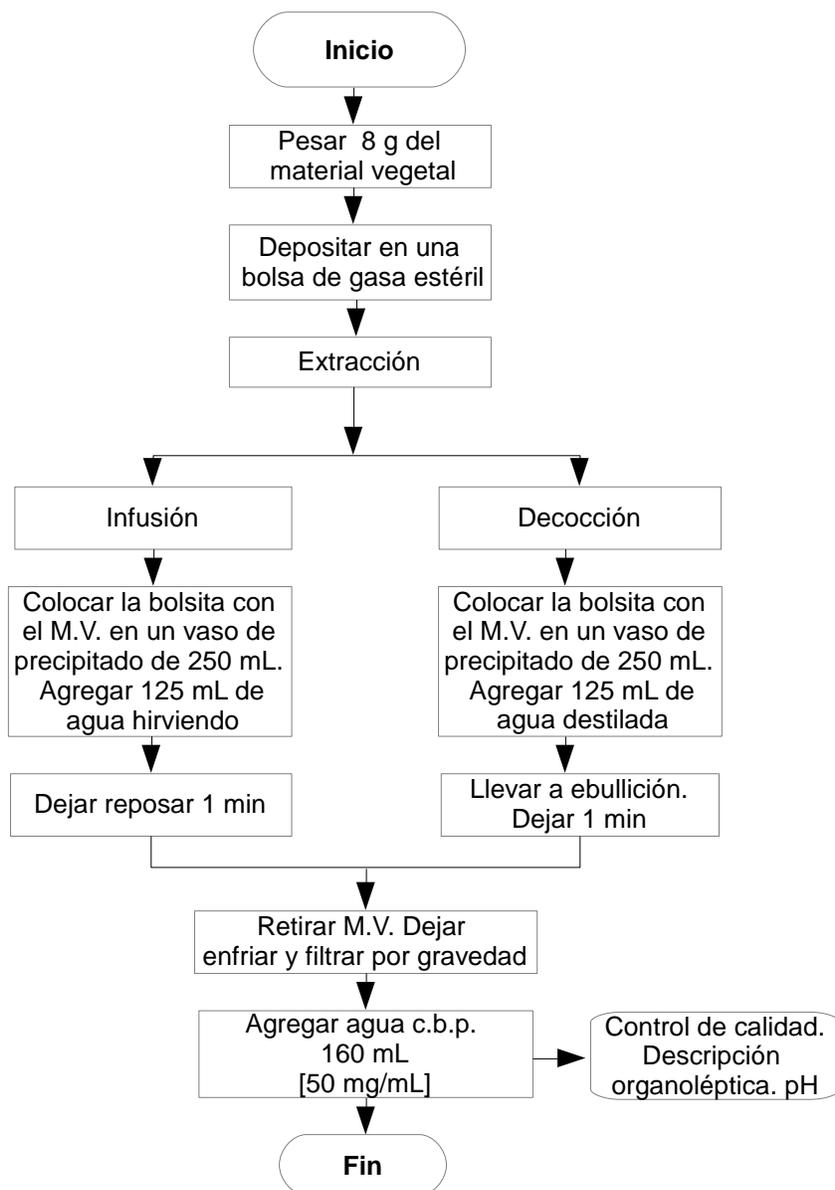


Figura 9. Diagrama de flujo de la obtención del extracto acuoso CRA-13.

5.3.3 Evaluación de la toxicidad del extracto acuoso CRA-13 mediante el ensayo de toxicidad aguda en *Artemia salina*

El ensayo de toxicidad en *Artemia salina* se basa en la posibilidad de causar la muerte de larvas de este crustáceo cultivadas en el laboratorio. Este método fue propuesto por Michael en 1956 y posteriormente desarrollado por Vanhececke (1981), Sleet y Brendel (1983) con el propósito de contar con una herramienta útil y sencilla para la determinación de toxicidad (Bustamante, 2012).

Este método, en el cual se determina el valor de la concentración letal media (CL_{50}) de compuestos y extractos en medio salino, actualmente se considera una herramienta útil para la evaluación preliminar de la toxicidad de extractos de plantas, metales pesados, la detección de toxinas de hongos y cianobacterias, así como la detección de distintos tipos de actividad biológica y para aislar e identificar sustancias vegetales bioactivas (González-Pérez, 2001; Sánchez *et al.*, 2005 y Cortés, 2005).

El bioensayo se llevó a cabo de la siguiente manera: se preparó previamente medio para *Artemia salina* (agua de mar artificial) de acuerdo a la siguiente fórmula: para 1L, se disolvió en agua destilada 23 g de NaCl, 11 g de MgCl \cdot 6H $_2$ O, 4 g de Na $_2$ SO $_4$, 1.3 g de CaCl $_2$ \cdot 2H $_2$ O y 0.7 g de KCl. Se ajustó el pH de la solución a 9.0 con Na $_2$ CO $_3$. Se realizó el montaje del equipo para la eclosión de los huevos, el cual consistió en una cámara de vidrio de 2 compartimentos (uno oscuro y el otro iluminado por una lámpara de 18 W colocada a una altura aproximada de 30 cm).

Para la eclosión de los crustáceos. Se agregó el medio para *Artemia salina* previamente esterilizada en la cámara de vidrio y se oxigenó por 15 minutos previos a la colocación de los huevecillos. Se adicionó 0.1 g de huevecillos por cada litro de agua de mar artificial. Se mantuvo aeración constante, temperatura de 28°C y pH = 9.0 durante el tiempo de incubación para garantizar la eclosión de los crustáceos (24h).

Para el ensayo de toxicidad aguda, se distribuyeron los grupos experimentales de la siguiente manera:

Grupo 1. Control positivo. $K_2Cr_2O_7$ [1, 10, 100 y 1000 ppm]

Grupo 2. Control negativo. Agua Milli-Q

Grupo 3. EACRA-13 inf [1, 10, 100 y 1000 ppm]

Grupo 4. EACRA-13 coc [1, 10, 100 y 1000 ppm]

Se colocó 2 mL del medio de cultivo y se introdujeron 10 *nauplius* por frasco vial más la muestra a evaluar. Se realizó el ensayo por triplicado.

Se incubaron los crustáceos por 24 h a 28°C y pH = 9.0. Transcurrido el tiempo de incubación se contó el número de sobrevivientes por vial.

Con los datos obtenidos se realizaron las gráficas correspondientes para cada muestra y se calculó la concentración del extracto a la cual se produjo la muerte del 50% de larvas de *A. salina*, es decir, la concentración letal 50 o CL_{50} , esto se realizó empleando el método de Reed-Muench (Figura 10). Se consideró que los extractos eran bioactivos cuando presentaran una $CL_{50} < 500$ ppm (Sánchez *et al.*, 2005).

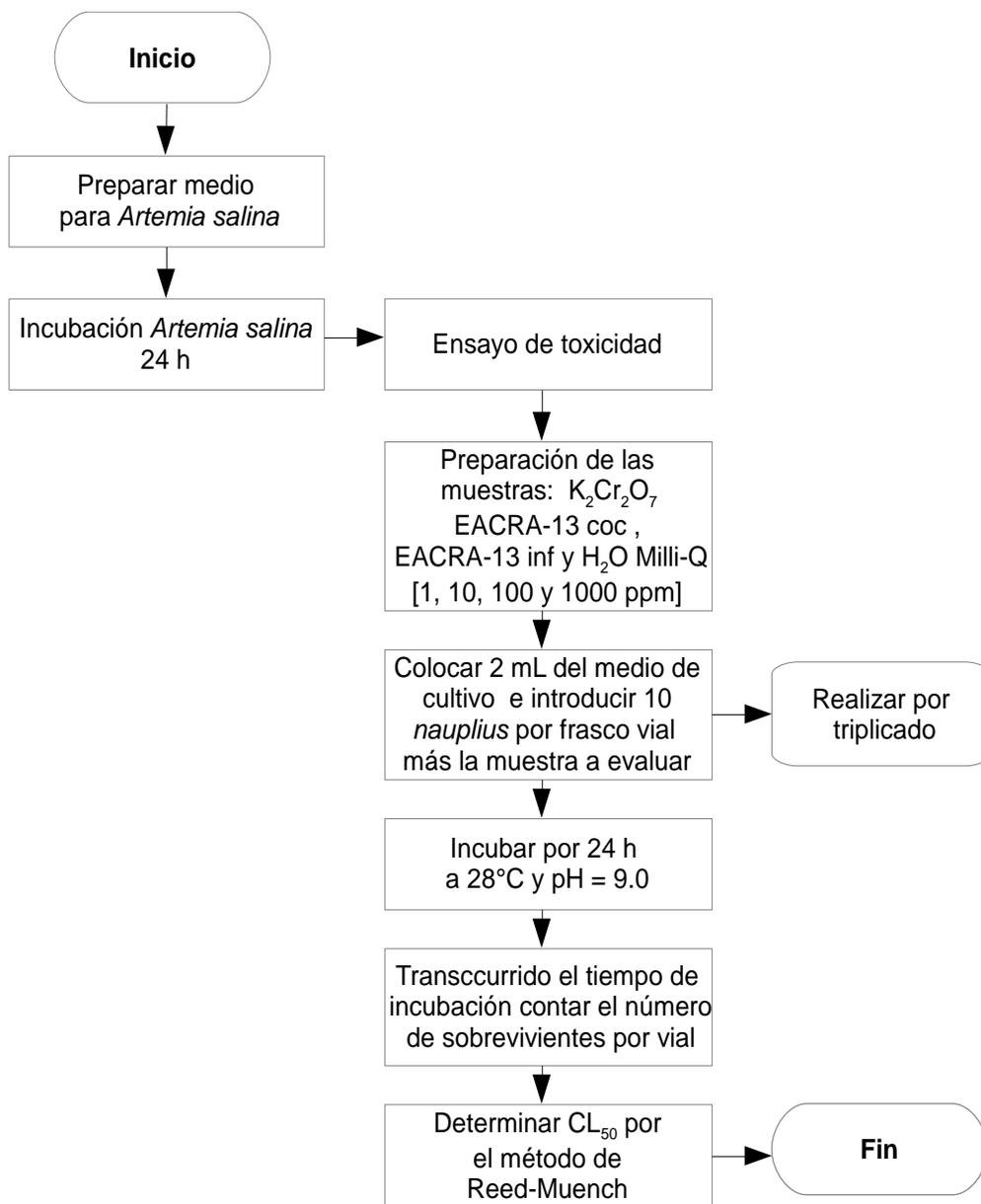


Figura 10. Diagrama de flujo del ensayo de toxicidad aguda en *Artemia salina*.

5.3.4 Propuesta de formulación de un gel con el extracto acuoso CRA-13

Para fines de este trabajo se requirió proponer una formulación básica de un gel de uso tópico que pudiera servir como vehículo para el extracto acuoso CRA-13 de modo que, éste pudiera ser aplicado sobre los animales de experimentación y así poder evaluar su actividad reepitelizante, por este motivo, no se realizó un desarrollo formal de un gel de uso tópico. A continuación se describen las actividades llevadas a cabo.

5.3.4.1 Diseño del gel con el extracto acuoso CRA-13

Para la elaboración del gel con el extracto acuoso CRA-13 se necesitó plantear previamente las características fisicoquímicas y de uso del producto a obtener.

En la Tabla 10 se muestran las especificaciones de calidad del producto a elaborar:

Tabla 10. Especificaciones de calidad del producto a elaborar.

Característica	Especificación
Apariencia	Gel, semisólido, viscoso, suave al tacto, uniforme y libre de partículas extrañas.
Color	Amarillo claro.
Olor	Característico de la planta.
pH (20°C)	5.0-6.0
Viscosidad (20°C) (Brookfield RTV, aguja N.6)	2800-3600 cps
Uso	Fácil de dispersar, sensación no grasosa o pegajosa.

cps = Centipoise

5.3.4.2 Preformulación

5.3.4.2.1 Caracterización del principio activo

Se llevó a cabo una evaluación sensorial del material vegetal y del extracto acuso, a fin de determinar sus características físicas y químicas: apariencia, color, olor y pH.

5.3.4.2.2 Estudio de compatibilidad de materias primas

Para la elección de los excipientes idóneos para la elaboración de un gel de uso tópico se tomaron en consideración los resultados del estudio de compatibilidad y solubilidad de materias primas para el desarrollo de un gel base de uso tópico, tomado del trabajo de Márquez-Ramírez, 2004.

Con base en los resultados obtenidos de Márquez-Ramírez, se seleccionaron los siguientes excipientes y aditivos para la elaboración del gel base (Tabla 11).

Tabla 11. Excipientes y aditivos seleccionados para la formulación.

Excipiente o aditivo	Función
Colágeno	Activo hidratante
Vitamina A, C y E	Activos antioxidantes
Carbopol 940	Agente gelificante
Trietanolamina	Agente neutralizante (base débil)
Metilparabeno, Propilparabeno	Conservadores
Glicerina	Humectantes
Agua	Solvente

5.3.4.3 Formulación

Empleando los excipientes seleccionados en la etapa de Preformulación, se elaboró la formulación de una base de gel de uso tópico, la cual estaba conformada por los siguientes componentes (Tabla 12):

Tabla 12. Excipientes y aditivos utilizados en la formulación de la base de gel.

Excipiente o aditivo	Función	% en formulación
Vitamina A	Antioxidante	0.50
Vitamina C	Antioxidante	0.50
Colágeno	Hidratante	0.50
Vitamina E	Antioxidante	0.25
Carbopol 940	Agente gelificante	2.00
Glicerina	Humectante	0.50
Metilparabeno	Conservador	0.25
Propilparabeno	Conservador	0.25
Trietanolamina	Agente neutralizante (base débil)	c.s.
Agua	Vehículo	c.b.p. 100.00 g

EACRA-13 = extracto acuoso CRA-13, c.s. = cantidad suficiente, c.b.p. = cuanto baste para.

Empleando esta formulación de gel base, se propusieron diez formulaciones diferentes, ocho con el extracto acuoso CRA-13 y dos únicamente con la base.

5.3.4.4 Elaboración del gel con el extracto acuoso CRA-13

La metodología que se muestra a continuación describe únicamente el proceso de elaboración del gel en general, el proceso de fabricación de las diez formulaciones propuestas contiene variantes, dependiendo de los excipientes utilizados y su contenido en la formulación.

Se verificó el orden y limpieza de los equipos, materiales y áreas de trabajo.

En un vaso de precipitados de 250 mL se vertió 100 mL de agua destilada y se adicionó por completo el polímero gelificante (Carbopol 940), se agitó constante y vigorosamente con una varilla de vidrio, durante aproximadamente 5 minutos, posteriormente se tapó el vaso de precipitados con papel parafilm y se dejó reposar durante 24 h.

Por otro lado, en un vaso de precipitados de 250 mL se vertió 50 mL de agua destilada y se adicionó el propilparabeno, se calentó ligeramente en la parilla hasta que alcanzó una temperatura entre 60-65°C manteniendo una agitación suave y constante con una varilla de vidrio hasta que alcanzó su solubilización;

posteriormente se adicionó el metilparabeno y se solubilizó de igual forma, se retiró la mezcla del calentamiento y se reservó hasta su uso (Mezcla 1).

En un vaso de precipitados de 250 mL se adicionó uno a uno los siguientes ingredientes: colágeno, vitamina A, vitamina E y glicerina. Se mezclaron los ingredientes completamente utilizando una varilla de vidrio en forma suave y constante. Se reservó la mezcla hasta su uso (Mezcla 2).

En otro vaso de precipitados de 100 mL se adicionó el extracto de prueba y la vitamina C (ácido ascórbico), se mezcló en forma suave y constante hasta la incorporación total (Mezcla 3).

Por otro lado, en un vaso de precipitados de 1 L se vertió 500 mL de agua destilada y se calentó en la parilla hasta que alcanzó una temperatura entre 70-80°C. Se retiró del calentamiento y se reservó hasta su uso.

En un vaso de precipitados de 1 L se incorporaron las mezclas 1, 2 y 3 así como la dispersión coloidal previamente obtenida. Se mezcló constante y vigorosamente con una varilla de vidrio hasta la incorporación de todos los ingredientes. Se adicionó agua caliente (70-80°C) hasta que alcanzó un volumen de 400 mL.

Posteriormente se sometió el producto obtenido a agitación con ultraturrax, adicionando cantidad suficiente de trietanolamina, hasta que alcanzó un pH entre 6.0-7.0.

Se dejó enfriar el producto obtenido, posteriormente se envasó y se etiquetó adecuadamente (Figura 11).

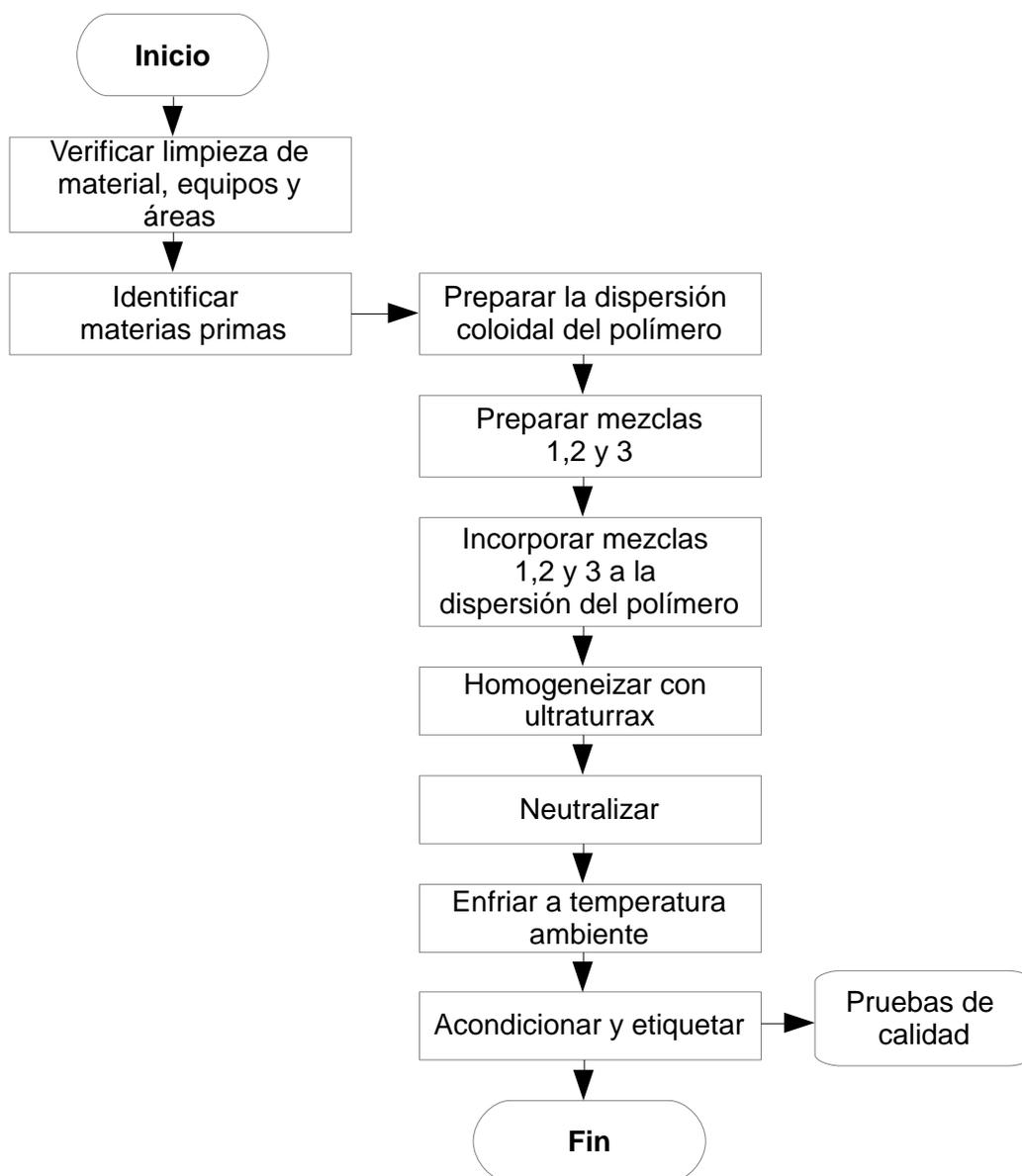


Figura 11. Diagrama de flujo de la elaboración del gel con el EACRA-13.

5.3.4.5 Pruebas de calidad del gel con el extracto CRA-13

Con el objeto de garantizar la calidad de los productos fabricados, es necesario que cumplan con las especificaciones establecidas en el diseño y saber si éstas son las requeridas para su función y uso. Por lo anterior es preciso determinar las propiedades fisicoquímicas del gel a evaluar (ANVISA, 2005).

Los parámetros que se evaluaron fueron los siguientes (Figura 12):

- Propiedades organolépticas: aspecto, color, olor.
- Propiedades fisicoquímicas: pH, viscosidad.

5.3.4.5.1 Determinación de propiedades organolépticas

Se llevó a cabo una evaluación sensorial de los geles elaborados, a fin de determinar sus características físicas: apariencia, color, olor y textura.

5.3.4.5.2 Determinación de propiedades fisicoquímicas

5.3.4.5.2.1 Determinación del pH

El pH es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones hidronio $[H_3O^+]$ presentes en determinadas sustancias (Brown *et al.*, 2006).

La piel humana tiene un pH superficial de alrededor de 5,5. El pH de los productos de aplicación tópica en general, no debe diferir mucho del pH de la piel, si este valor es modificado puede ocasionar irritación sobre la piel (Martínez-Fraga, 2012).

Con base en lo anterior, se debe mantener un valor adecuado de pH en el gel propuesto, tanto para que el producto no resulte dañino para la piel, así como para que las variaciones de pH no cambien la estructura química de alguna sustancia en la formulación, promoviendo inestabilidad del gel.

La determinación de pH se realizó de acuerdo al modo de empleo especificado por el fabricante del papel indicador de pH.

Primero se verificó el orden y la limpieza de los materiales y área de trabajo. Se tomó la longitud necesaria de papel indicador y se introdujo durante 1 segundo a una profundidad de 1-2 cm en la muestra del gel a evaluar. Finalmente, se clasificó dentro de 10 segundos la coloración con la escala colorimétrica y se leyó el correspondiente valor del pH (pH óptimo 5-6).

5.3.4.5.2.2 Determinación de la viscosidad

Esta prueba está basada en la medición de la resistencia que ofrece un fluido, cuando se le aplica una fuerza que lo induce al movimiento, bajo condiciones establecidas. Esta prueba se llevó a cabo según lo especificado en el MGA 0951, FEUM 8^{va} edición.

Antes de la prueba se verificó el correcto funcionamiento del viscosímetro Brookfield RV, así como el orden y limpieza del área de trabajo.

Se vertió la muestra a evaluar en su contenedor correspondiente, el cual consistió en pomadera de cloruro de polivinilo (PVC) con tapa. Posteriormente la muestra se introdujo en un baño María y se equilibró la temperatura a 20°C. Una vez estabilizada la temperatura, se seleccionó el número de aguja indicada (N.6) y las rpm (50).

Se introdujo la aguja en la muestra de manera inclinada para evitar la formación de burbujas; se encendió el viscosímetro y se dejó funcionando entre 30 a 60 segundos. Al término de este tiempo, se oprimió el embrague para detener la escala y se registró la lectura señalada, dicha operación se realizó por triplicado y después se promediaron las lecturas.

La lectura promedio obtenida se multiplicó por el factor correspondiente de la tabla adjunta al aparato (Anexo 1), para así obtener la viscosidad absoluta de la muestra en centipoises (cps).

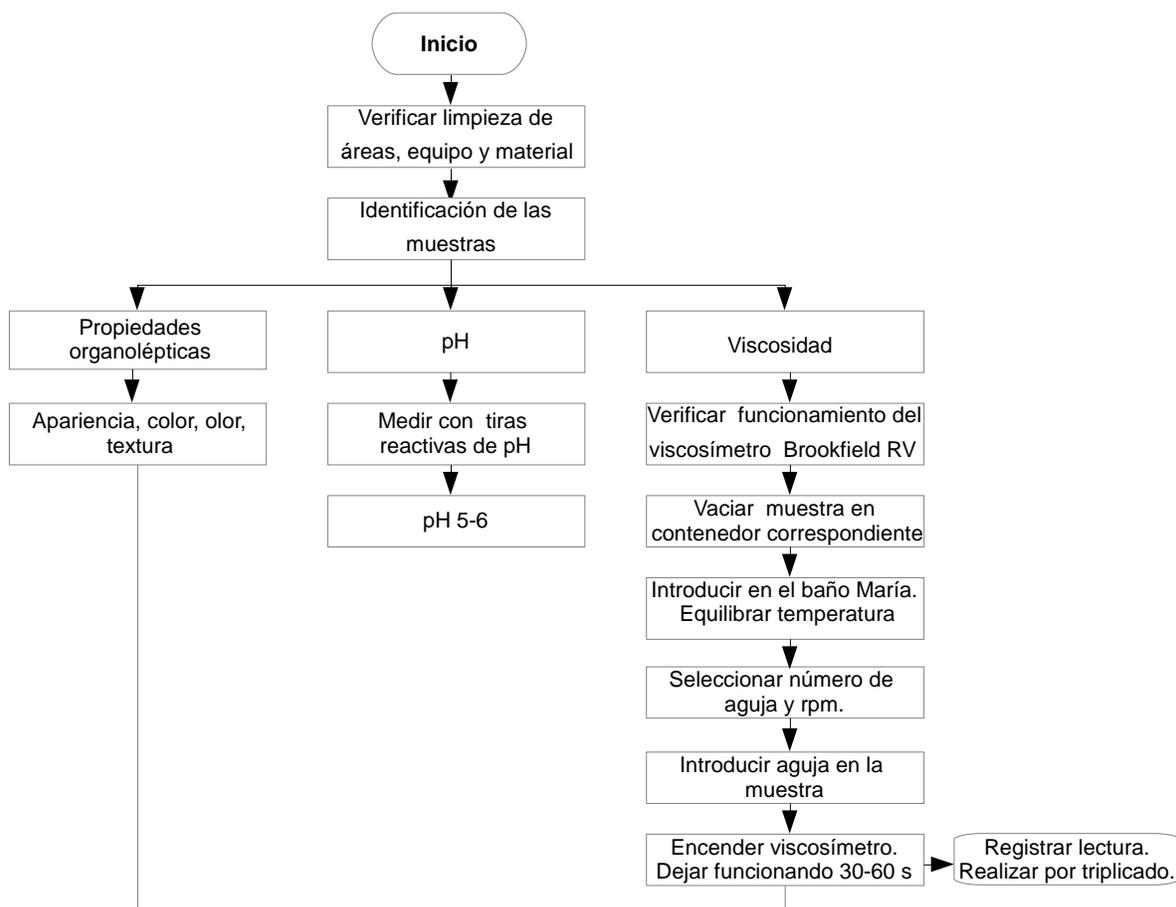


Figura 12. Diagrama de flujo de la determinación de las propiedades fisicoquímicas del gel con el extracto acuoso CRA-13.

5.3.5 Prueba de irritación en piel de conejos

Los productos farmacéuticos de uso tópico son formulaciones que contienen ingredientes que pueden causar lesiones en la piel, por lo tanto, es importante comprobar que su contenido sea inocuo y seguro para el usuario.

Esta prueba se realizó con la finalidad de asegurar el uso confiable del producto por el consumidor, descartando así posibles reacciones inflamatorias locales que pudieran presentarse durante su aplicación, de acuerdo a lo establecido en la NOM-039-SSA1-1993 y el MGA 0515. Irritabilidad en piel de la FEUM 8^{va} edición.

Se verificó el orden y limpieza de los materiales y áreas de trabajo. 24 horas previas a la realización de la prueba, se rasuró el dorso de los conejos, desde la región escapular a la lumbar, a un lado y otro de la columna vertebral. Sin lesionar la piel.

El día de la prueba se aplicó 0.5 mL del material de prueba directamente en el dorso de cada animal, cubriendo la zona de prueba con un parche de gasa quirúrgica de 2 x 2 cm y sujetándolo con cinta adhesiva. Se consideró como control cualquier otra área de la piel en esa zona.

Se colocó a cada animal en un cepo para minimizar sus movimientos durante la prueba. Transcurridas 4 horas, se sacó a los conejos de los cepos y se removió el parche, eliminando los restos del material de prueba con una toalla húmeda.

Se evaluó el sitio de prueba, a los 30 y 60 minutos después de removido el parche, a las 24 y 72 horas de iniciada la prueba, de acuerdo a la escala de evaluación de eritema y edema presente en el Anexo 2.

Una vez obtenidas las lecturas de eritema y edema, se promedió por separado las calificaciones de las evaluaciones para los tres animales. A partir de estos promedios, se calculó el índice de irritación primaria.

De acuerdo al índice de irritación primaria, se clasificó al producto en una de las categorías descritas en el Anexo 2 (Figura 13).

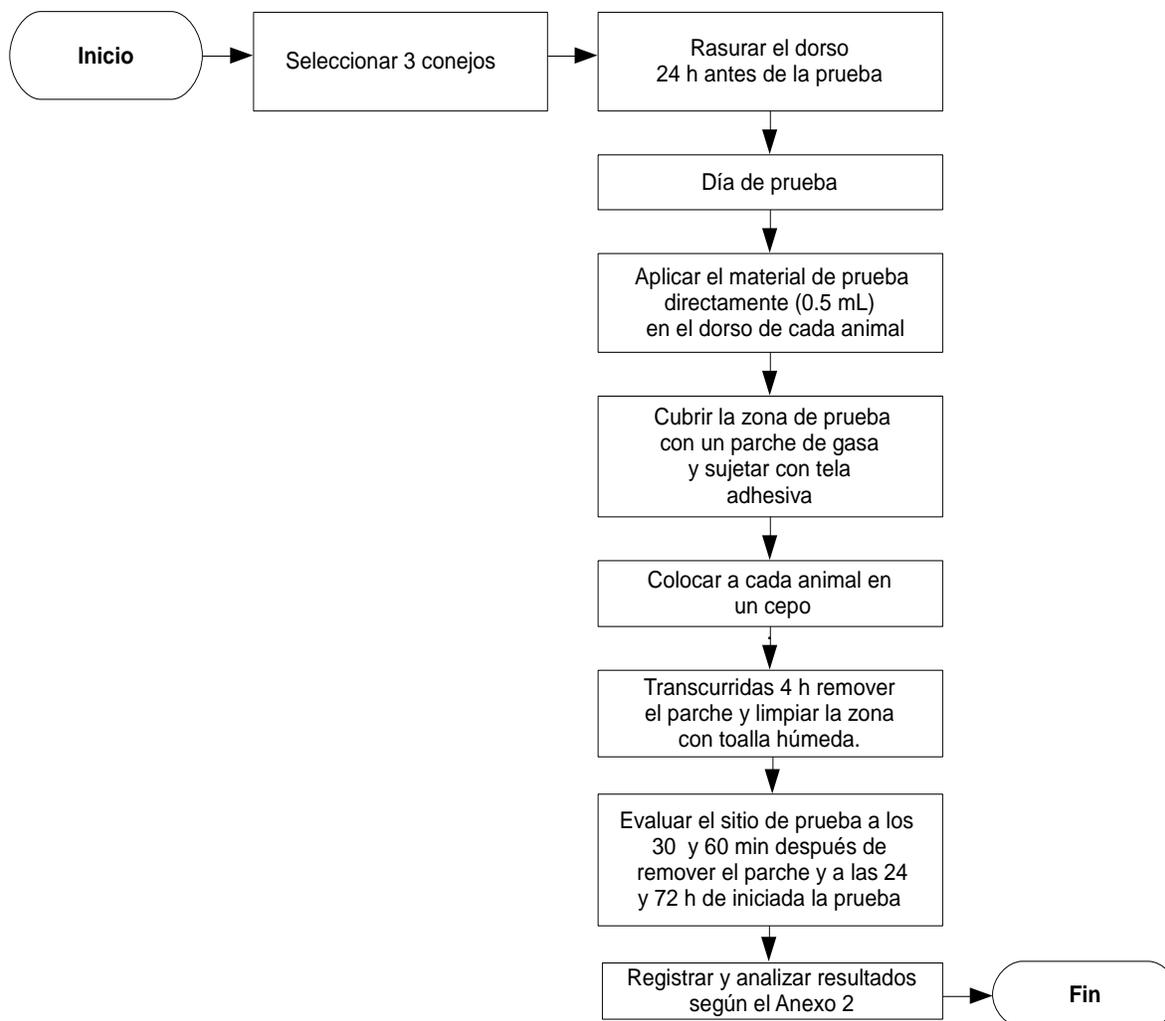


Figura 13. Diagrama de flujo de la prueba de irritación en piel de conejos.

5.3.6 Estandarización del modelo de quemadura en rata

El uso de modelos experimentales animales permite introducir y manipular variables con el fin de dar respuesta a problemas planteados (León *et. al.*, 2009). Por ejemplo, para reproducir las condiciones fisiopatológicas de las quemaduras, es necesario contar con un modelo animal que permita evaluar los efectos tópicos de diferentes agentes sobre la reparación de heridas. La literatura menciona diferentes técnicas para producir quemaduras con fines experimentales, las cuales, en muchos de los casos, una vez probadas, no son reproducibles ni fiables. Es por esto que, se tuvo que buscar otros métodos y modelos animales, para inducir las quemaduras de manera que se generen las condiciones fisiopatológicas de las quemaduras, así como su reproducibilidad.

5.3.6.1 Modelos de quemaduras

Para producir quemaduras de primer grado se evaluaron 3 diferentes modelos: quemadura por escaldadura con agua, quemadura por escaldadura con cera y quemadura térmica con cerillo.

Se verificó el orden y limpieza de los materiales y áreas de trabajo. Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (40 mg/kg) vía IP. Se rasuró la región dorso-escapular y se provocaron en condiciones asépticas las lesiones. Después del procedimiento de quemadura se les administró analgésico Meloxicam (2 mg/kg) vía SC. Las lesiones se evaluaron macroscópicamente y microscópicamente mediante un estudio histopatológico.

5.3.6.1.1 Modelo de quemadura con agua

Una vez anestesiados y rasurados los animales, se delimitó el área de la piel a lesionar, con gasa quirúrgica. Se dejó caer gotas de agua hirviendo, sobre la piel del animal, mediante una jeringa con cánula de metal (para mantener constante la temperatura del agua), y se mantuvo el agua sobre la piel por un tiempo

cronometrado de 5 segundos. Transcurrido el tiempo de exposición, se secó y limpió la herida con SSI.

5.3.6.1.2 Modelo de quemadura con parafina

Se delimitó con gasa quirúrgica el área de la piel a lesionar de los animales previamente anestesiados y rasurados. Se calentó a baño María la parafina hasta su fundición y se dejó caer gotas de parafina derretida sobre la piel del animal mediante una jeringa sin aguja y se mantuvo sobre la piel hasta que solidificó. Una vez solidificada la parafina se retiró con unas pinzas y se limpió la herida con SSI.

5.3.6.1.3 Modelo de quemadura con cerillo

Se anestesió y se rasuró previamente el dorso de los animales, según lo especificado anteriormente, se puso en contacto la piel del animal con la flama de un cerillo a una distancia de 1 cm durante 3 segundos. Transcurrido el tiempo de exposición se limpió la herida con SSI.

5.3.7 Evaluación de la actividad reepitelizante del gel con el extracto acuoso CRA-13

Para la evaluación de la actividad reepitelizante, se utilizaron los modelos de quemadura en rata cepa Wistar propuestos. Se utilizó una N = 10 ratas en forma aleatoria y se distribuyeron en 3 grupos experimentales de la siguiente manera (Figura 14):

Grupo I: Control negativo. Evolución espontánea sin tratamiento.

Grupo II: Control positivo. Tratamientos de referencia (Fitoestimulina[®] [Extracto acuoso de *Triticum vulgare*], Recoveron C[®] [acexamato de sodio] y Argentafil[®] [Sulfadiazina de plata]).

Grupo III: Gel con el EACRA-13.

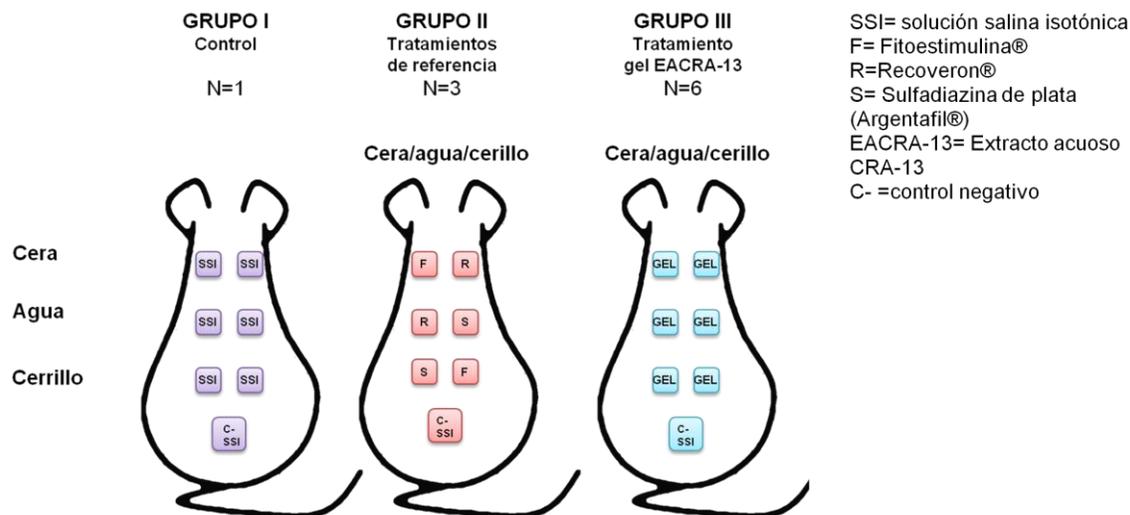


Figura 14. Distribución de los grupos experimentales para la evaluación de la actividad reepitelizante del gel con el EACRA-13.

Inmediatamente después de practicadas las lesiones se procedió a la aplicación de los tratamientos empleados. Se verificó el orden y la limpieza de los materiales y áreas de trabajo. Se pesó y marcó a los animales y se anestesiaron con pentobarbital sódico (40 mg/kg) vía IP. Una vez anestesiados los animales, se rasuró la región dorso-escapular de cada animal. Una hora antes de realizar las quemaduras se administró el analgésico Meloxicam (2 mg/kg) vía SC, y después cada 24 h, durante 3 días.

Los animales se dividieron en los grupos experimentales y se procedió a realizar las lesiones de quemaduras, según los modelos antes propuestos. Después de practicadas las lesiones, se aplicaron los tratamientos vía tópica sobre la lesión, según el grupo experimental a evaluar (Figura 14). La aplicación de los tratamientos se realizó cada 12 h por 5 días (hasta que la herida sanó). Llevando un registro diario del estado clínico de los animales. Se consideró que la herida había sanado con el resurgimiento del pelo.

El último día de tratamiento, se realizó eutanasia a todos los animales, mediante cámara de CO₂. Inmediatamente después, se tomó una muestra del tejido a evaluar por escisión quirúrgica para el estudio histopatológico (Figura 15).

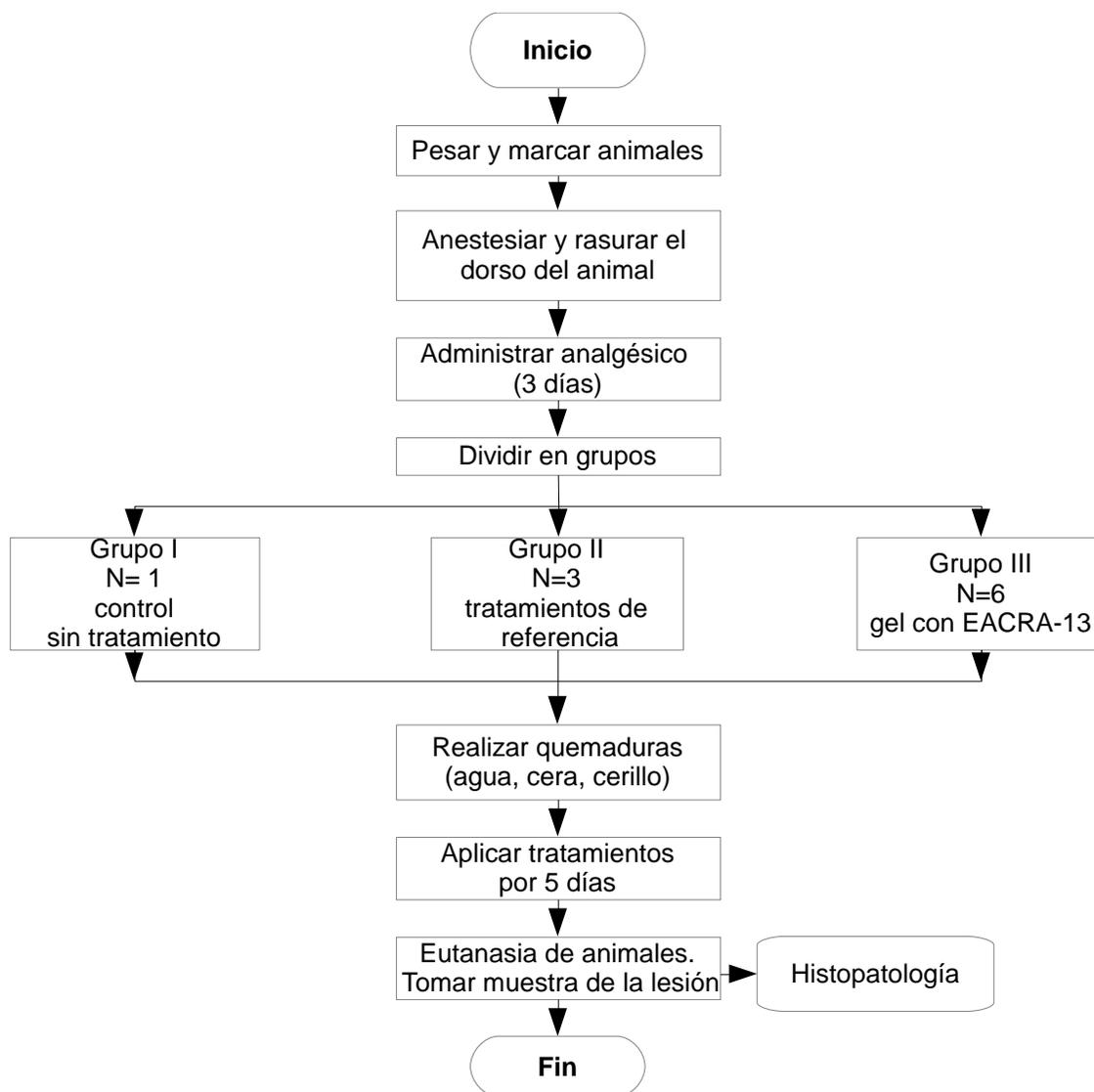


Figura 15. Diagrama de flujo de la evaluación de la actividad reepitelizante del gel con el extracto acuoso CRA-13.

5.3.7.1 Procesamiento y evaluación histopatológica

Un tejido es un conjunto de células similares, con un origen embrionario común y funciones también comunes, que realiza actividades especializadas. Distintos tejidos se asocian entre sí para formar los órganos (Tortora, 2008).

La histología es la ciencia que estudia los tejidos, la cual es una disciplina eminentemente descriptiva basada en la observación mediante microscopio de los distintos tipos de tejidos. La mayoría de los cuales, son incoloros y por ello se requiere teñirlos para observar sus características morfológicas.

Los colorantes usados son normalmente hidrosolubles y se caracterizan por unirse a ciertas moléculas presentes en los tejidos gracias a afinidades químicas. Una de las tinciones más utilizada en histología, es la tinción hematoxilina-eosina sobre cortes de parafina, tiñendo tanto al núcleo (morado) como al citoplasma (rosa). Otra tinción utilizada es con el colorante azul de toluidina, el cual es usado para tinción nuclear en cortes histológicos (Ross, 2007; Vigo, 2013).

El procesamiento y evaluación histopatológica se llevó a cabo de la siguiente manera: después de realizarse el estudio de la actividad reepitelizante, se tomó una muestra de tejido por escisión quirúrgica de las lesiones a evaluar de todos los grupos experimentales.

Se realizó la fijación de las mismas en formaldehído al 10% por 24 horas, procesándose por la técnica clásica de inclusión en parafina; las muestras se cortaron en un microtomo a cinco micras de espesor, coloreándose con hematoxilina-eosina (HE) y azul de toluidina (AT) (Figura 16).

Las observaciones histopatológicas se realizaron por microscopía óptica a través de un microscopio óptico a 10 (10X) y 40 (40X) aumentos, donde se evaluó la continuidad del epitelio, edema, estrato basal, daño en la dermis e hipodermis, presencia de costra y reconstrucción epidérmica (Figura 17).

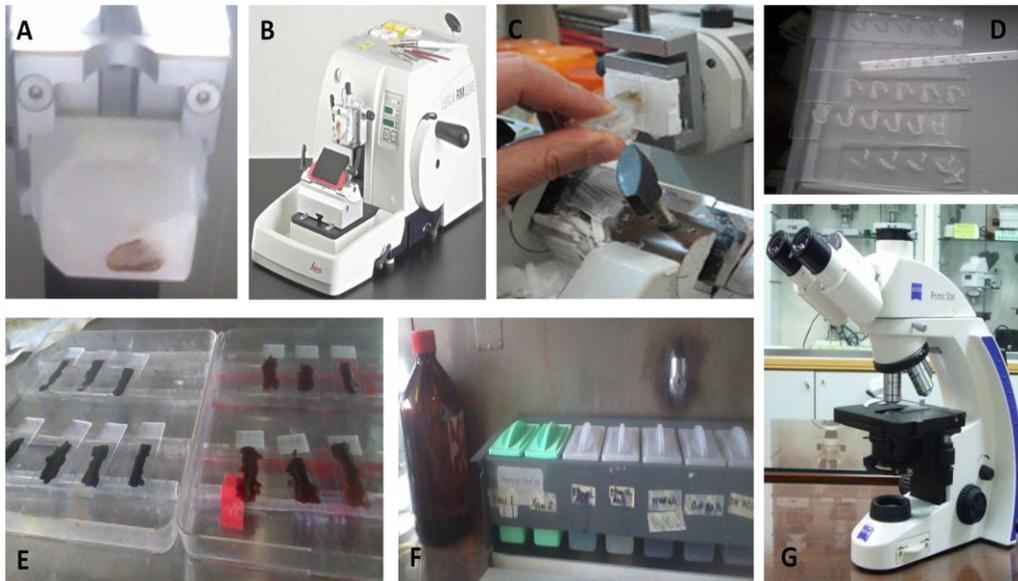


Figura 16. Procesamiento histopatológico. A) Bloque de parafina con muestra; B) Microtomo; C) Corte en microtomo; D) Colocación del tejido en portaobjetos; E) Tinción; F) Desparafinización e hidratación; G) Observación al microscopio.

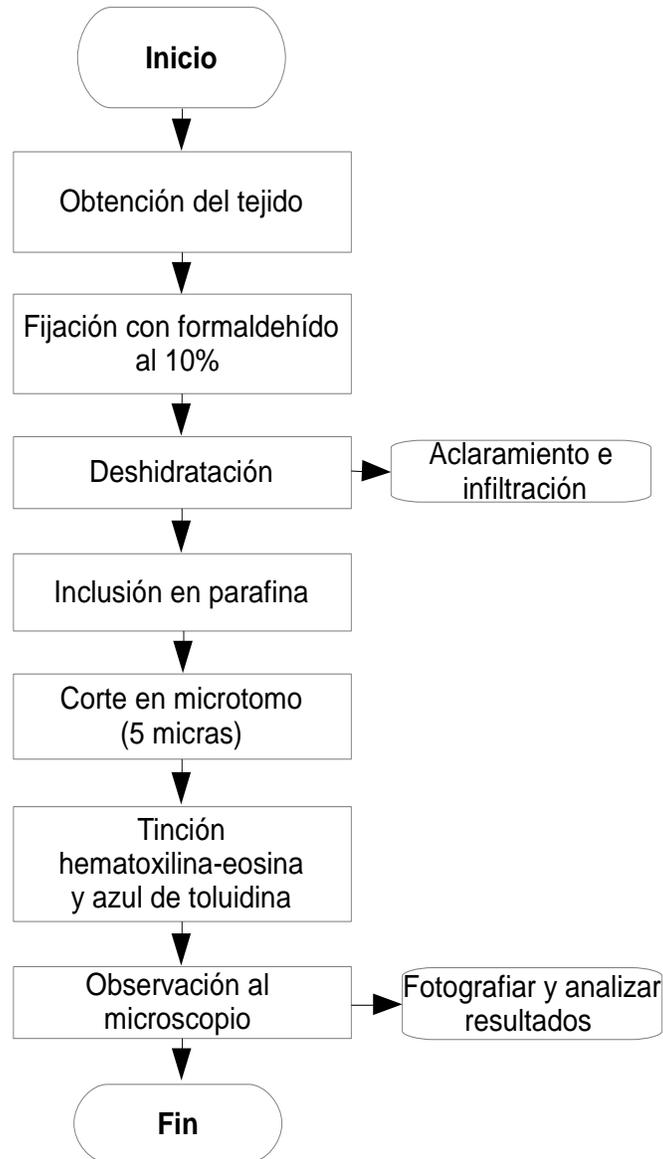


Figura 17. Diagrama de flujo del proceso histopatológico.

Capítulo 6. Resultados

6.1 Descripción macroscópica del material vegetal

La descripción de las características físicas del material vegetal y del extracto acuoso se muestra en la Tabla 13:

Tabla 13. Descripción macroscópica del material vegetal.

Material vegetal	Descripción
CRA-13	Polvo fino, seco y molido. Color verde oscuro. Olor característico de la planta.
EACRA-13 inf	Solución color café oscuro-rojizo. Olor característico de la planta. Homogénea, sin partículas suspendidas. pH = 6
EACRA-13 coc	Solución color café oscuro-rojizo. Olor característico de la planta. Sin partículas suspendidas. Homogénea. pH = 6

EACRA-13 = extracto acuoso CRA-13; inf = método de infusión; coc = método de decocción.

6.2 Evaluación de la toxicidad del extracto acuoso CRA-13 mediante el ensayo de toxicidad aguda en *Artemia salina*

Se muestran en la Figura 18 las gráficas correspondientes para cada muestra evaluada, donde se observa la relación de las frecuencias acumuladas de los crustáceos de *A. salina* vivos contra las muertas, con respecto al logaritmo de la concentración, obteniéndose así la concentración letal media (CL₅₀), por el método de Reed-Muench. Para el dicromato de potasio (control positivo) se obtuvo una CL₅₀ de 24.2 ppm (24.2 µg/mL) mientras que para el EACRA-13 por el método de

decocción y para el EACRA-13 por el método de infusión, se obtuvo una CL_{50} de 398.1 ppm (398.1 $\mu\text{g/mL}$) y 402.7 ppm (402.7 $\mu\text{g/mL}$) respectivamente.

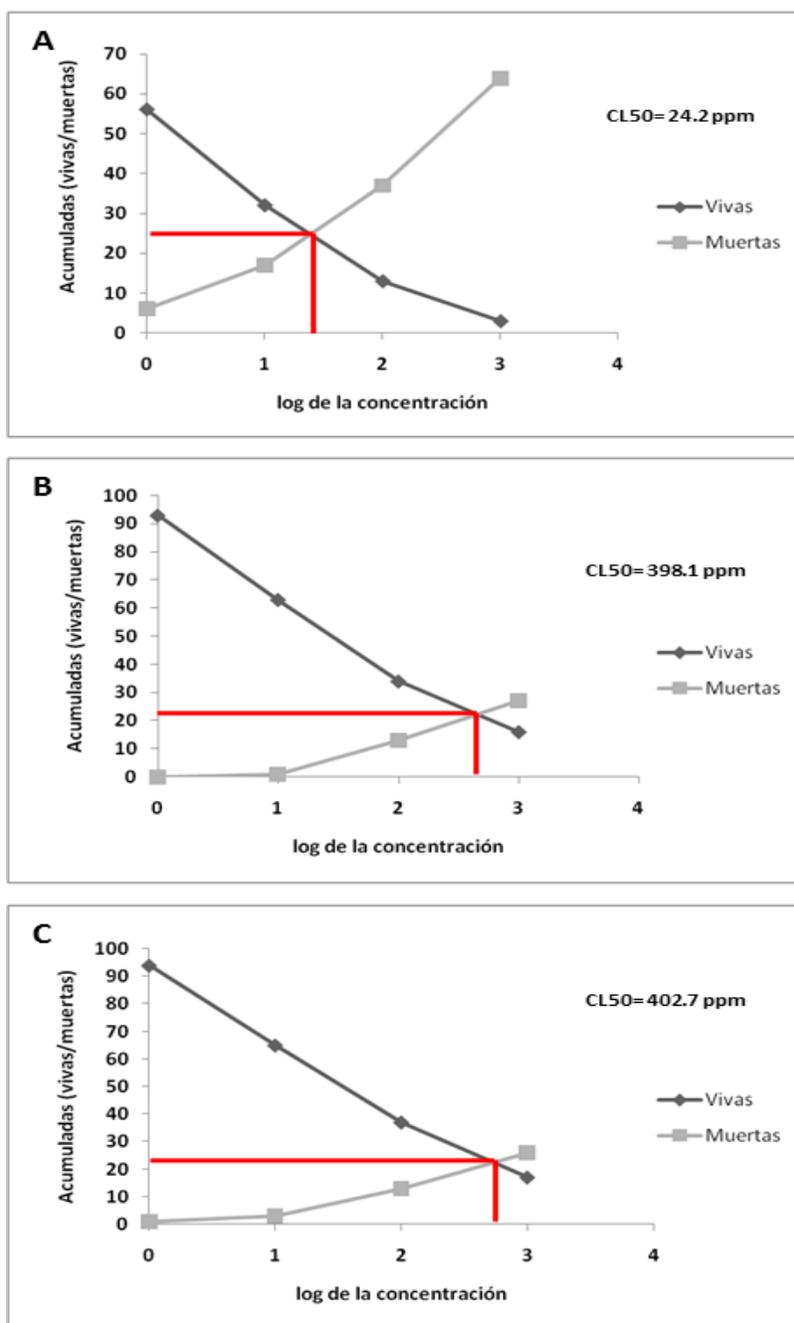


Figura 18. Determinación de la CL_{50} por el método de Reed-Muench; A) $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (control positivo); B) EACRA-13 por el método de decocción; C) EACRA-13 por el método de infusión.

6.3 Propuestas de formulación del gel con el extracto CRA-13

En la Tabla 14 se muestran las diferentes propuestas de formulación para elaborar 100 g de gel de uso tópico.

Tabla 14. Propuestas de formulación del gel.

Excipiente o aditivo	N. de formulación (% p/p)									
	1	2	3	4	5	7	8	9	10	11
EACRA-13 coc	-----	5.00	-----	5.00	-----	5.00	-----	5.00	-----	-----
EACRA-13 inf	-----	-----	5.00	-----	5.00	-----	5.00	-----	5.00	-----
Vitamina A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Vitamina C	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Colágeno	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	-----	-----	-----	-----	-----
Vitamina E	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Carbopol 940	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Glicerina	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Metilparabeno	0.25	0.25	0.25	-----	-----	0.25	0.25	-----	-----	0.25
Propilparabeno	0.25	0.25	0.25	-----	-----	0.25	0.25	-----	-----	0.25
Trietanolamina	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
Agua	95.25	90.25	90.25	90.75	90.75	90.75	90.75	91.25	91.25	95.75

EACRA-13 = extracto acuoso CRA-13, c.s. = cantidad suficiente.

6.3.1 Pruebas de calidad

Con el fin de garantizar la calidad de los productos elaborados, es necesario que cumplan con las especificaciones establecidas en el diseño. Por lo anterior se determinaron sus propiedades fisicoquímicas y se evaluó si estas cumplían o no con las especificaciones de diseño.

Para tal fin se definió la siguiente escala de evaluación:

✓ = Aceptable, × = Inaceptable

En la Tabla 15 se muestra el comparativo de los resultados de las pruebas de calidad de los geles elaborados.

Tabla 15. Evaluación de las especificaciones de calidad de las formulaciones.

Característica de diseño	N. de formulación									
	1	2	3	4	5	7	8	9	10	11
Apariencia	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	x	✓
Color	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	x	✓
Olor	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
pH	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Viscosidad	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓
Uso (fácil de dispersar, sensación no grasosa o pegajosa)	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓
Evaluación	Se acepta	Se acepta	Descartada por dejar sensación pegajosa en la piel	Se acepta	Descartada por diferencia en la coloración	Se acepta	Descartada por baja viscosidad.	Se acepta	Descartada por baja consistencia y diferencia en la coloración	Se acepta

✓ = Aceptable , x = Inaceptable

6.4 Prueba de irritación en piel de conejos

Los resultados de la prueba de irritación en piel de conejos de los geles evaluados, se muestran en las Tablas 16 ,17 y 18. Estos resultados se obtuvieron según lo especificado en la NOM-039-SSA1-1993 y el MGA 0515 de la FEUM 8^{va} edición, presentado en el Anexo 2.

Tabla 16. Evaluación de la presencia de eritema en la piel de conejos.

Reacción cutánea	Eritema												Promedio
Conejo	1				2				3				
Tiempo de exposición (h)	0.5	1	24	72	0.5	1	24	72	0.5	1	24	72	
Muestra (Gel)													
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
6(SSi)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0.08
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
10	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.16
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0.08
12(SSi)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00

SSI = solución salina isotónica; h= horas.

Tabla 17. Evaluación de la presencia de edema en la piel de conejos.

Reacción cutánea	Edema												Promedio
Conejo	1				2				3				
Tiempo de exposición (h)	0.5	1	24	72	0.5	1	24	72	0.5	1	24	72	
Muestra													
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.08
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
6 (SSI)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
7	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0.08
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
12(SSi)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00

SSI = solución salina isotónica; h = horas.

A partir de los resultados mostrados en las Tablas 16 y 17, se calculó el índice de irritación primaria de cada uno de los geles, para posteriormente clasificar a los productos como se muestra en la Tabla 18.

Tabla 18. Índice de irritación primaria y clasificación de los geles evaluados.

Muestra (gel)	IIP	Clasificación
1	0.00	No irritante
2	0.00	No irritante
3	0.04	No irritante
4	0.00	No irritante
5	0.00	No irritante
7	0.08	No irritante
8	0.00	No irritante
9	0.00	No irritante
10	0.08	No irritante
11	0.04	No irritante

IIP= índice de irritación primaria.

En la Figura 19, se muestra la evolución de la prueba de irritación en piel de conejos, donde se puede apreciar que no hay presencia de edema, ni eritema en la piel del conejo evaluado, corroborando así los resultados presentados en las tablas anteriores.

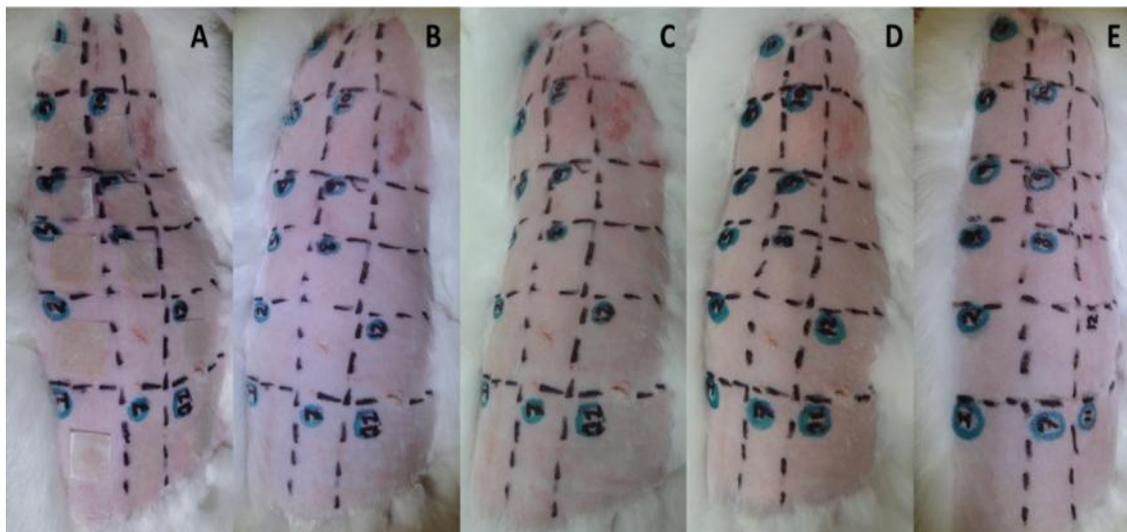


Figura 19. Prueba de irritación en piel de conejos. A) Inicio de la prueba; B) Evaluación a los 30 min; C) 60 min; D) 24 h y E) 72 h después de iniciada la prueba.

6.5 Estandarización del modelo de quemadura en rata

Para determinar el grado o el tipo de quemadura que se generaba con los diferentes modelos de quemadura propuestos, se realizó una evaluación macroscópica y una microscópica de las lesiones. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

6.5.1 Evaluación macroscópica de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemaduras

En la evaluación macroscópica, la Figura 20A muestra la piel intacta y rasurada del animal (control), mientras que la Figura 20B muestra la distribución y comparación de los diferentes modelos de quemadura propuestos. En el caso del modelo de quemadura con parafina, en la Figura 20C se puede observar que se generó una lesión de características delimitadas (eritema, piel deshidratada, sin presencia de flictenas y con grado de lesión superficial), correspondientes a una quemadura de primer grado.

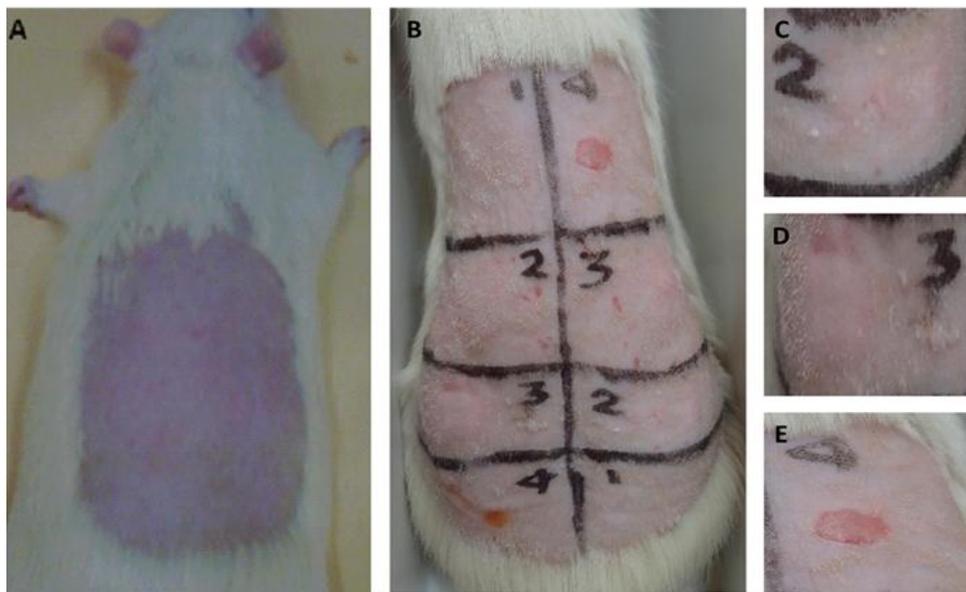


Figura 20. Lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemadura. A) Piel intacta y rasurada del animal; B) Diferentes modelos de quemadura; C) Quemadura con parafina; D) Quemadura con agua; E) Quemadura con cerillo.

El modelo con agua provocó una lesión de características similares a las provocadas por los otros modelos, sin embargo, a partir del tercer día se observó la presencia de ampolla o flictena sobre la piel (Figura 21). El modelo de quemadura con cerillo, ocasionó una lesión eritematosa muy definida, seca y sin flictena (Figura 20E).

En la Figura 21, se muestra la evolución de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemadura, donde se observa que al día diez, las lesiones estaban recuperadas con la presencia de pelo y sin escara.

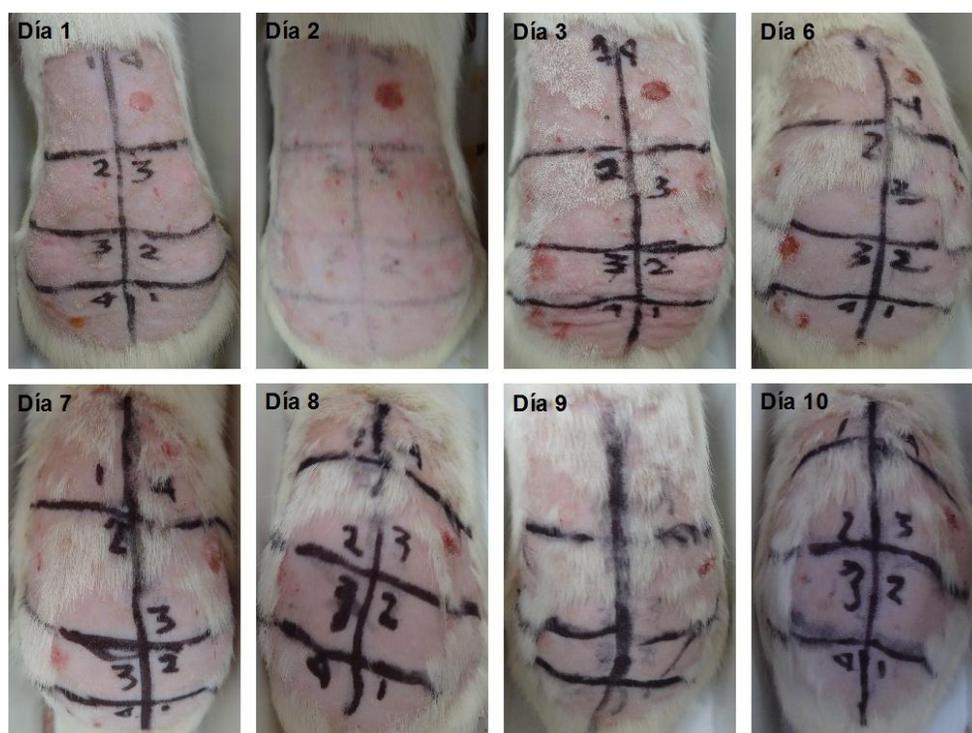
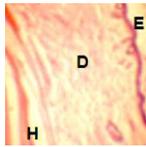
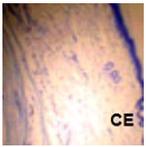
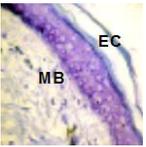
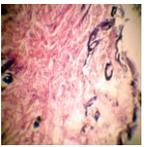
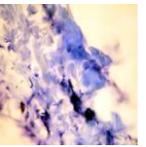
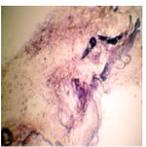
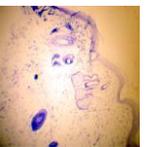
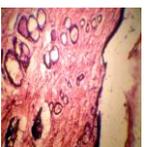


Figura 21. Evolución de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemadura. 1 = Piel intacta; 2 = Quemadura con parafina; 3 = Quemadura con agua; 4 = Quemadura con cerillo.

6.7.2 Evaluación microscópica de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemaduras

En cuanto a la evaluación microscópica, la Tabla 19 muestra los resultados del análisis histológico realizado a las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemaduras, en donde se muestran las fotografías de los cortes histológicos, los cuales fueron teñidos con hematoxilina y eosina (HE) y azul de toluidina (AT) y observados al microscopio a 10 y 40 aumentos (10X y 40X).

Tabla 19. Evaluación histopatológica de los diferentes modelos de quemaduras.

Muestra	HE 10X	HE 40X	AT 10X	AT 40X	Observaciones
Piel intacta					Se pueden observar las diferentes capas de la piel. La epidermis presenta una fina capa de queratina que constituye el estrato córneo. Las capas de la epidermis son claramente distinguibles. En el límite entre epidermis y dermis se observan las crestas epidérmicas y las papilas dérmicas. Se aprecian folículos pilosos y glándulas sebáceas. No hay presencia de edema, ni de infiltración celular.
Quemadura con agua					Se observa la destrucción de la epidermis, conservando algo de estrato basal. Sin daño en dermis e hipodermis.
Quemadura con parafina					Lesión a nivel de la epidermis, conservando el estrato basal. Sin daño en dermis e hipodermis.
Quemadura con cerillo					Se observa la destrucción de las capas superficiales de la epidermis, manteniéndose el estrato de Malpighi (estrato basal) intacto. No hay daño a nivel de dermis e hipodermis.

HE = tinción hematoxilina y eosina, AT = tinción azul de toluidina, D = dermis, E = epidermis, H = hipodermis, FP = folículo piloso, CE = crestas epidérmicas, MB = membrana basal o estrato basal, EC = estrato córneo.

A continuación en la Tabla 20, se muestra un comparativo de los resultados microscópicos y macroscópicos de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemaduras, así como su clasificación según Converse-Smith y Benaim-Artigas, dos de las clasificaciones más utilizadas.

Tabla 20. Comparación de los resultados microscópicos y macroscópicos de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemaduras y su clasificación.

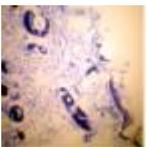
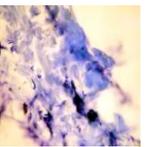
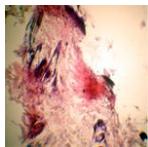
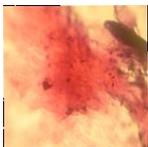
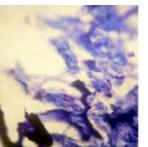
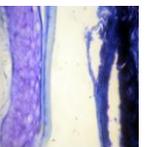
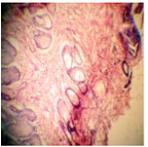
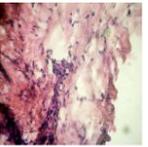
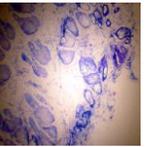
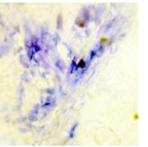
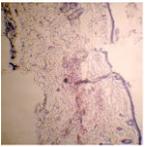
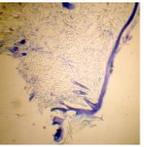
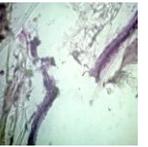
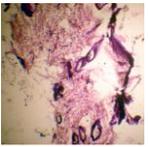
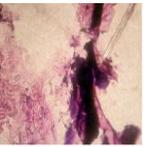
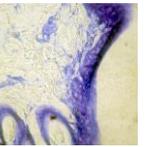
Modelo de quemadura	Características microscópicas	Características macroscópicas	Clasificación Converse-Smith	Clasificación Benaim-Artigas
Agua	Dstrucción de la epidermis, conservando parte de la membrana basal. Sin daño en dermis e hipodermis. Conservación de folículos pilosos.	Flictena, lecho sonrosado y húmedo	Segundo grado superficial	A flictenular
Parafina	Lesión a nivel de la epidermis, conservando la capa basal. Sin daño en dermis e hipodermis.	Eritematosa, no exudativa, sin flictenas o ampollas	Primer grado	A eritematosa
Cerillo	Dstrucción de la epidermis, manteniéndose el estrato de Malpighi (capa basal y espinal) intacto. No hay daño a nivel de dermis e hipodermis.	Eritematosa, no exudativa y sin flictenas	Primer grado	A eritematosa

6.6 Evaluación de la actividad reepitelizante del gel con el extracto acuoso CRA-13

Para la evaluación de la actividad reepitelizante se utilizaron los geles con las formulaciones que cumplieron con las características de diseño propuestas.

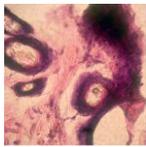
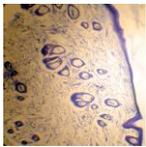
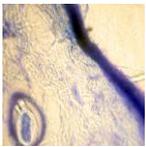
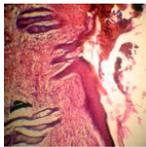
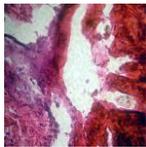
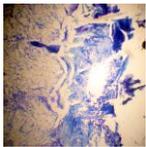
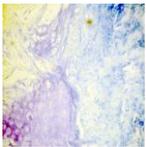
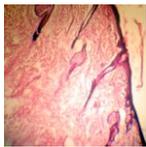
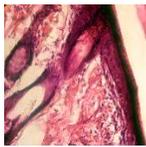
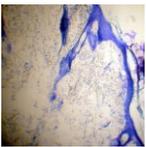
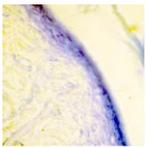
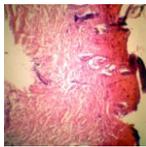
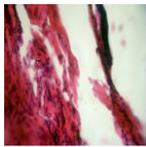
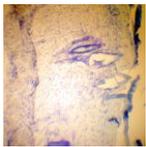
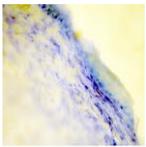
A continuación, se presentan en las Tablas 21, 22 y 23 los resultados histopatológicos obtenidos de la actividad reepitelizante de los geles con el EACRA-13, así como de los tratamientos de referencia, sobre las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemadura. Donde se muestran las fotografías de los cortes histológicos, los cuales fueron teñidos con hematoxilina y eosina (HE) y azul de toluidina (AT) y observados al microscopio a 10 y 40 aumentos (10X y 40X).

Tabla 21. Evaluación histopatológica de las quemaduras con agua bajo tratamiento.

Tratamiento	HE 10X	HE 40X	AT 10X	AT 40X	Observaciones
Control (evolución espontánea)					Sin continuidad del epitelio. Sin daño en dermis e hipodermis. Estrato basal incipiente y sin aparente reconstrucción epidérmica.
Fitoestimulina®					Edema, sin continuidad del epitelio, daño en dermis y epidermis, ausencia de estrato basal y sin aparente reconstrucción epidérmica.
Recoveron®					Continuidad del epitelio, sin daño en dermis e hipodermis, capa basal con proliferación de queratinocitos y presencia de costra. Reconstrucción epidérmica.
Sulfadiazina					Edema. Sin continuidad del epitelio, sin daño en dermis e hipodermis. Ausencia de estrato basal. Sin aparente reconstrucción epidérmica.
Gel 1					Edema. Daño en epidermis, ruptura del epitelio. Ausencia de estrato basal. Sin reconstrucción epidérmica.
Gel 2					Lesión a nivel de epidermis. Presencia de estrato basal, con proliferación de queratinocitos y costra. Recuperación de la lesión con crecimiento de pelo.

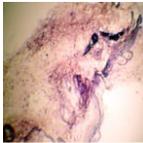
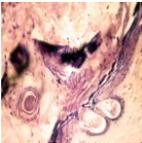
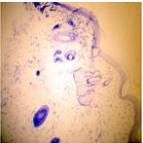
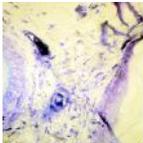
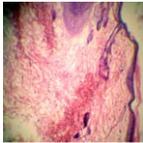
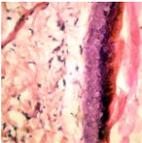
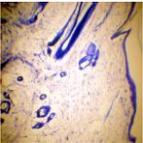
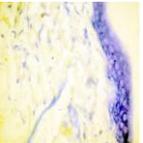
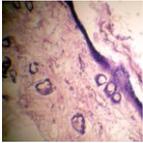
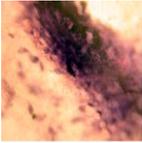
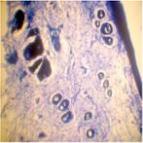
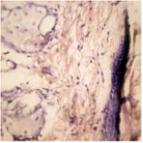
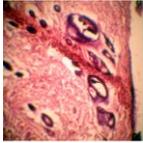
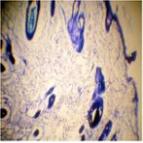
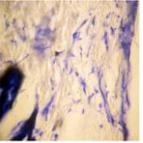
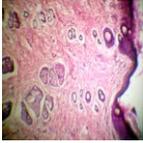
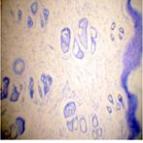
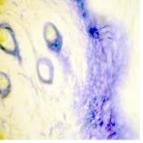
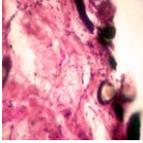
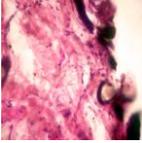
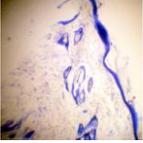
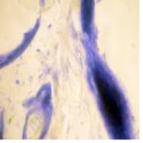
HE = tinción con hematoxilina-eosina; AT = tinción con azul de toluidina; 10X = diez aumentos; 40X = cuarenta aumentos.

Tabla 21. Evaluación histopatológica de las quemaduras con agua bajo tratamiento (continuación).

Tratamiento	HE 10X	HE 40X	AT 10X	AT 40X	Observaciones
Gel 4					Edema. Continuidad del epitelio. Estrato basal con proliferación de queratinocitos. Reconstrucción epidérmica con presencia de costra.
Gel 7					Continuidad del epitelio. Estrato basal con abundante proliferación de queratinocitos. Reparación epidérmica con presencia de costra.
Gel 9					Continuidad del epitelio. Sin daño en dermis e hipodermis. Presencia de estrato basal. Reparación epidérmica con crecimiento de pelo.
Gel 11					Sin continuidad del epitelio. Ruptura de la epidermis, sin daño en la dermis e hipodermis. Incipiente capa basal, con presencia de costra.

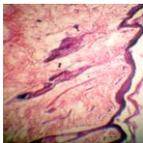
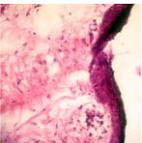
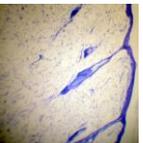
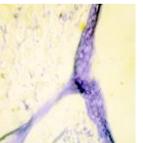
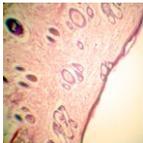
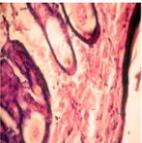
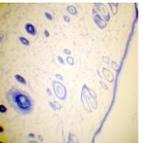
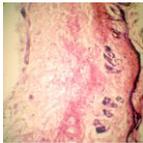
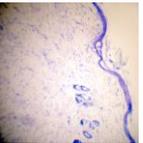
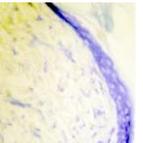
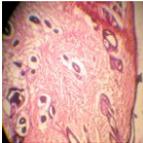
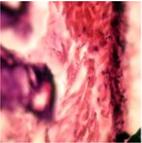
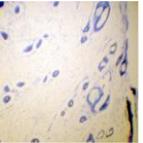
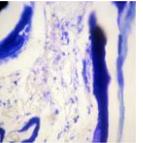
HE = tinción con hematoxilina-eosina; AT = tinción con azul de toluidina; 10X = diez aumentos; 40X = cuarenta aumentos.

Tabla 22. Evaluación histopatológica de las quemaduras con parafina bajo tratamiento.

Tratamiento	HE 10X	HE 40X	AT 10X	AT 40X	Observaciones
Control (evolución espontánea)					Lesión a nivel de la epidermis, presencia de estrato basal. Sin daño en dermis e hipodermis. Aparente reconstrucción epidérmica.
Fitoestimulina®					Edema. Sin daño en dermis y epidermis. Presencia de estrato basal. Aparente reconstrucción epidérmica.
Recoveron®					Continuidad del epitelio, sin daño en dermis e hipodermis, presencia de estrato basal. Aparente reconstrucción epidérmica.
Sulfadiazina					Edema. Daño a nivel de epidermis, sin daño en dermis e hipodermis. Ausencia de capa basal. Sin aparente reconstrucción epidérmica.
Gel 1					Continuidad del epitelio. Sin daño en dermis e hipodermis. Estrato basal evidente. Con presencia de costra.
Gel 2					Edema. Sin continuidad del epitelio, sin daño en dermis e hipodermis. Ausencia de estrato basal. Incipiente reconstrucción epidérmica.

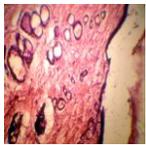
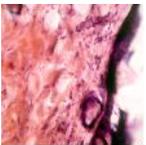
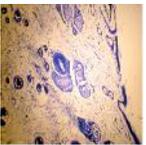
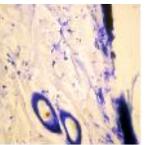
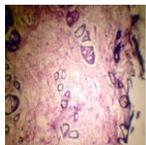
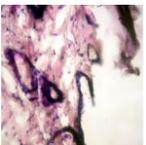
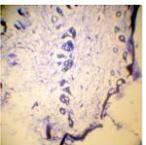
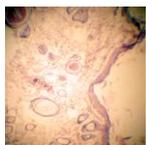
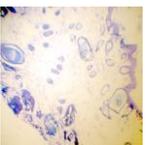
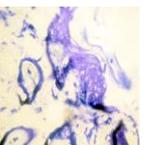
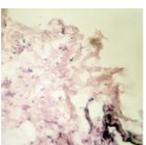
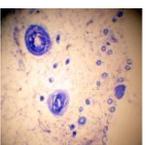
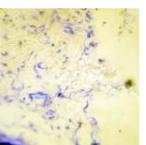
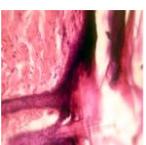
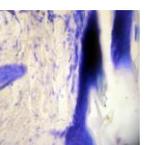
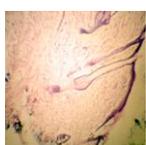
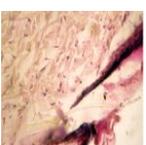
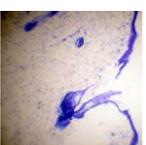
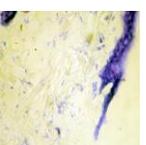
HE = tinción con hematoxilina-eosina; AT = tinción con azul de toluidina; 10X = diez aumentos; 40X = cuarenta aumentos.

Tabla 22. Evaluación histopatológica de las quemaduras con parafina bajo tratamiento (continuación).

Tratamiento	HE 10X	HE 40X	AT 10X	AT 40X	Observaciones
Gel 4					Edema. Sin daño en dermis e hipodermis. Ligera ruptura de la epidermis. Presencia de estrato basal con proliferación de queratinocitos.
Gel 7					Continuidad del epitelio. Sin daño en dermis e hipodermis. Presencia de estrato basal con abundante proliferación de queratinocitos. Evidente reparación epidérmica.
Gel 9					Edema. Continuidad del epitelio. Sin daño en dermis e hipodermis. Estrato basal evidente, con proliferación de queratinocitos. Aparente reconstrucción epidérmica.
Gel 11					Edema. Daño en a nivel epidérmico. Estrato basal incipiente. Sin reconstrucción epidérmica visible.

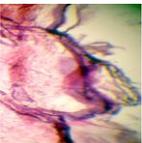
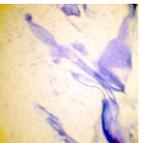
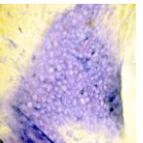
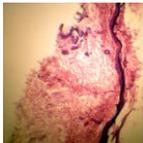
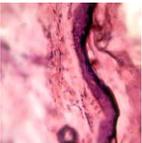
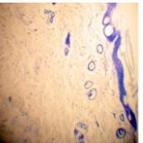
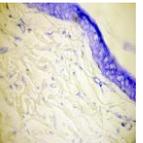
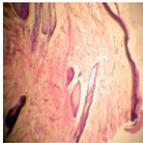
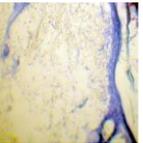
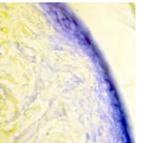
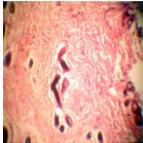
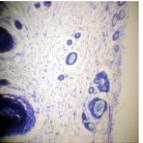
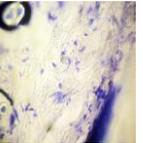
HE = tinción con hematoxilina-eosina; AT = tinción con azul de toluidina; 10X = diez aumentos; 40X = cuarenta aumentos.

Tabla 23. Evaluación histopatológica de las quemaduras con cerillo bajo tratamiento.

Tratamiento	HE 10X	HE 40X	AT 10X	AT 40X	Observaciones
Control (evolución espontánea)					Edema. Sin continuidad del epitelio. Sin daño en dermis e hipodermis. Estrato basal incipiente. Sin evidencia de reconstrucción epidérmica.
Fitoestimulina®					Edema. Sin continuidad del epitelio. Daño a nivel epidérmico, sin daño en dermis e hipodermis. Ruptura de la epidermis, sin presencia de capa basal.
Recoveron®					Continuidad del epitelio. Sin daño en dermis e hipodermis. Presencia de estrato basal y costra.
Sulfadiazina					Daño a nivel epidérmico, sin daño en dermis e hipodermis. Ausencia de estrato basal. Sin reconstrucción epidérmica.
Gel 1					Edema. Sin daño en dermis e hipodermis. Lesión a nivel epidérmico. Sin continuidad del epitelio. Presencia de costra.
Gel 2					Continuidad del epitelio. Sin daño en dermis e hipodermis. Presencia de estrato basal. Recuperación de la lesión, permitiendo el crecimiento del pelo.

HE = tinción con hematoxilina-eosina; AT = tinción con azul de toluidina; 10X = diez aumentos; 40X = cuarenta aumentos.

Tabla 23. Evaluación histopatológica de las quemaduras con cerillo bajo tratamiento (continuación).

Tratamiento	HE 10X	HE 40X	AT 10X	AT 40X	Observaciones
Gel 4					Daño a nivel de epidermis. Presencia del estrato basal, con proliferación de queratinocitos y costra. Recuperación de la lesión, con crecimiento de pelo.
Gel 7					Sin daño en dermis e hipodermis. Estrato basal con proliferación de queratinocitos. Presencia de costra, con recuperación de la lesión.
Gel 9					Continuidad del epitelio. Sin daño en dermis e hipodermis. Presencia de estrato basal, con proliferación de queratinocitos. Costra. Reconstrucción epidérmica.
Gel 11					Daño a nivel epidérmico, sin daño en dermis e hipodermis. Ausencia de estrato basal. Sin evidencia de reconstrucción epidérmica.

HE = tinción con hematoxilina-eosina; AT = tinción con azul de toluidina; 10X = diez aumentos; 40X = cuarenta aumentos.

6.6.1 Evaluación histopatológica

Con el fin de evaluar el efecto reepitelizante de los geles con el EACRA-13, se realizó un estudio histopatológico. En este estudio se analizaron factores tisulares, tales como:

A) Edema, B) Continuidad del epitelio, C) Estrato basal, D) Dermis, E) Hipodermis, F) Costra y G) Reconstrucción epidérmica.

Se definió la siguiente puntuación numérica: 0 = Ausente, 1 = Incipiente, 2 = Moderada, 3 = Evidente, 4 = Abundante. Estos parámetros fueron establecidos de acuerdo a lo observado en la piel sana e intacta.

En la Tabla 24 se muestra el comparativo de los resultados del estudio histopatológico del efecto reepitelizante de los geles empleados en los diferentes modelos de quemadura.

Tabla 24. Evaluación histopatológica del efecto reepitelizante de los geles con el EACRA-13.

Análisis histológico	Gel 1			Gel 2			Gel 4			Gel 7			Gel 9			Gel 11		
	A	P	C	A	P	C	A	P	C	A	P	C	A	P	C	A	P	C
Quemadura																		
A) Edema	1	0	2	0	2	0	3	1	0	0	0	1	0	3	1	0	1	0
B) Continuidad del epitelio	0	3	2	2	1	2	3	3	2	2	3	3	3	3	3	1	3	2
C) Estrato basal	0	3	1	3	1	2	2	3	3	4	3	4	3	3	3	1	1	0
D) Dermis	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
E) Hipodermis	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
F) Costra	0	4	3	1	3	0	1	0	2	4	0	2	1	0	1	3	1	0
G) Reconstrucción epidérmica	0	1	1	3	1	3	2	3	3	3	4	4	4	3	3	1	1	0

Puntuación: 0 = Ausente, 1 = Incipiente, 2 = Moderada, 3 = Evidente, 4 = Abundante; dónde A = Agua, P = Parafina, C = Cerillo.

6.7 Propuesta de formulación elegida del gel con el extracto acuoso CRA-13

De acuerdo con los resultados obtenidos de las pruebas de calidad de las formulaciones propuestas y de la evaluación de la actividad reepitelizante, se determinó que la formulación propuesta que cumple con las especificaciones de diseño y que proporciona un mejor efecto reepitelizante corresponde a la propuesta número 7, por lo cual, ésta fue elegida como la formulación final.

A continuación en la Tabla 25 se presenta la composición, proporción y función de los componentes de la formulación final.

Tabla 25. Formulación del producto final.

Excipiente o aditivo	% en formulación	Función
EACRA-13	5.0	Regenerador celular, reepitelizante
Vitamina A	0.50	Antioxidante
Vitamina C	0.50	Antioxidante
Colágeno	0.50	Hidratante
Vitamina E	0.25	Antioxidante
Carbopol 940	2.00	Agente gelificante
Glicerina	0.50	Humectante
Metilparabeno	0.25	Conservador
Propilparabeno	0.25	Conservador
Trietanolamina	c.s.	Agente neutralizante (base débil)
Agua	c.b.p. 100.00 g	Vehículo

EACRA-13= extracto acuoso CRA-13; c.s.= cantidad suficiente; c.b.p.= cuanto baste para.

6.7.1 Determinación de las propiedades fisicoquímicas del producto final

Se muestran en la Tabla 26 los resultados de las determinaciones fisicoquímicas del producto final, correspondientes a la formulación número 7.

Tabla 26. Propiedades fisicoquímicas del gel con el EACRA-13.

Propiedad	Especificación
Apariencia	Gel, semisólido, viscoso, suave al tacto
Color	Amarillo claro
Olor	Característico a la planta
pH	5.0-6.0
Viscosidad	2800 cps

cps = Centipoise

Capítulo 7. Discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ensayo de toxicidad aguda en *Artemia salina*, el EACRA-13 presenta actividad biológica, tanto por el método de decocción, como por el método de infusión, ya que se obtuvo una CL_{50} de 398.1 ppm (398.1 $\mu\text{g/mL}$) y 402.7 ppm (402.7 $\mu\text{g/mL}$) respectivamente. Mientras que, para el control positivo ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) se obtuvo una CL_{50} de 24.2 ppm (24.2 $\mu\text{g/mL}$), lo cual concuerda con lo reportado en la literatura (González-Pérez, 2001).

Estas concentraciones letales medias al ser <500 ppm, se consideran bioactivas y moderadamente tóxicas según la clasificación de CYTED (Sánchez, 2005).

Sin embargo, se puede apreciar que la bioactividad en el método de infusión fue menor al obtenerse una $CL_{50} = 402.7$ ppm ó 402.7 $\mu\text{g/mL}$, esto significa que se necesitan más ppm o una mayor concentración del extracto para que se presente el efecto biológico sobre los *nauplius* de *Artemia salina*.

Esta diferencia en las concentraciones letales medias de los extractos es causada posiblemente por el método de extracción, ya que, en el caso del método por decocción éste presentó una mayor bioactividad debido a que el material vegetal estuvo más tiempo en contacto con el disolvente (agua) y en ebullición, favoreciendo la solubilización de los principios activos, mientras que en el método de infusión el material vegetal estuvo menos tiempo en contacto con el disolvente y a una menor temperatura, dando como resultado una solución más diluida del extracto (Osorio-Durango, 2009). Sin embargo, esta diferencia en las concentraciones letales medias entre los métodos de extracción no fue sustancial,

por tanto, se elaboraron y se evaluaron los geles con el EACRA-13 obtenido por ambos métodos de extracción (infusión y decocción).

Para fines de este trabajo se requirió proponer una formulación básica de un gel de uso tópico que pudiera servir como vehículo para el extracto acuoso CRA-13 de modo que, éste pudiera ser aplicado sobre los animales y así poder evaluar su actividad reepitelizante sobre quemaduras de primer grado, por tal motivo, se realizó una propuesta de formulación de un gel con el extracto acuoso CRA-13, donde se propusieron 10 diferentes formulaciones para elaborar el gel, 8 con el EACRA-13 y 2 únicamente con la base, con el objetivo de seleccionar la formulación que cumpliera con las características de diseño.

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 15, se descartaron las propuestas de formulación 3, 5, 8 y 10 por no cumplir con las especificaciones de calidad requeridas, mientras que las formulaciones 1, 2, 4, 7, 9 y 11 si cumplieron con dichas especificaciones, por tanto, se decidió trabajar con estas formulaciones en la evaluación de la actividad reepitelizante, ya que no se presentaron diferencias sustanciales entre dichas formulaciones.

En relación con los resultados obtenidos en la prueba de irritación en piel de conejos, los cuales se muestran en las tablas 16 ,17 y 18, estos valores exhiben que no se presentaron reacciones inflamatorias locales (eritema y/o edema) sobre la piel de los animales después de la administración de los geles, por lo tanto, se puede catalogar a los productos como: no irritantes y aptos para consumo humano (NOM-039-SSA1, 1993).

Respecto a la estandarización del modelo de quemadura, el uso de animales de laboratorio o de experimentación es esencial como parte de las pruebas de fase preclínica, donde se establecen las condiciones ideales del modelo a desarrollar por un lado y por otro, permite evaluar la eficacia y seguridad de fármacos en sus diferentes presentaciones. Posteriormente y de acuerdo con los resultados obtenidos, se puede continuar con la fase clínica en sus diferentes etapas (*León et*

al., 2009), por ejemplo, es necesario contar con un modelo animal que permita evaluar los efectos tópicos de diferentes agentes sobre la reparación de heridas.

Es por esto que, con el propósito de reproducir las condiciones fisiopatológicas de las quemaduras, se realizó una revisión bibliográfica sobre los métodos animales utilizados en la reproducción de éstas. La literatura menciona diferentes técnicas para producir quemaduras con fines experimentales, las cuales, en muchos de los casos, una vez probadas no fueron reproducibles ni fiables. Por tal motivo, se tuvo que buscar otros métodos y modelos animales para inducir las quemaduras de manera que fueran reproducibles.

En el presente estudio se analizaron diferentes agentes para producir quemaduras con las características deseadas (primer grado o epidérmicas), entre los agentes que se probaron, además de los utilizados en este trabajo, estuvieron: silicón líquido caliente y crema depilatoria con tioglicolato de potasio. Sin embargo estos dos modelos no presentaron las características de una quemadura de primer grado, por lo cual, dichos modelos fueron descartados.

En la Tabla 20 se muestra una comparación de los resultados microscópicos (Figura 20) y macroscópicos (Tabla 19) de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemadura propuestos (agua, parafina y cerillo), así como su clasificación según Converse-Smith y Benaim-Artigas. En el caso de la quemadura con parafina sus características tanto microscópicas como macroscópicas concuerdan con las de una quemadura de primer grado o tipo A eritematosa por lo que, en este estudio se trabajó con dicho modelo. Por otro lado, el modelo de quemadura con agua, presentó al tiempo cero características macroscópicas similares a las de la cera (eritema), sin embargo, al tercer día de producida la lesión apareció una ampolla, con lo cual ya no cumplía con los requisitos de una quemadura de primer grado. No obstante, al realizar el estudio histopatológico se encontró que hubo destrucción parcial de la epidermis, conservando la capa basal y sin daño en la dermis, sobre todo la superficial o

papilar, coincidiendo con las características de una quemadura tipo A flictenular, según la clasificación de Benaim, por tanto, se continuó trabajando con este modelo.

En lo que respecta al modelo de quemadura con cerillo, la lesión presentó eritema muy definido, no exudativo y sin presencia de flictenas, por lo que, se pudo clasificar como quemadura tipo A eritematosa o de primer grado (Lovesio, 2006 y Schwartz, 2008).

En la Figura 21, se muestra la evolución de las lesiones provocadas por los diferentes modelos de quemadura, donde se observa que al tercer día se formó una ampolla en la lesión provocada por el agua en ebullición, mientras que en el primer y segundo día de provocada la quemadura, ésta no se presentó, así como también se puede observar que al día diez, las lesiones ya estaban recuperadas, con crecimiento de pelo y sin escara.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se propone la rata cepa Wistar como modelo de quemadura causada con agua en ebullición, parafina y cerillo, logrando tener lesiones cutáneas delimitadas y de fácil reproducción.

En lo que se refiere a la evaluación de la actividad reepitelizante del gel con el extracto acuoso CRA-13, los resultados obtenidos del estudio histopatológico se muestran en las Tablas 21, 22 y 23, en donde, se puede observar que en general las lesiones tratadas con los geles que contenían el EACRA-13, presentaron una buena recuperación del tejido lesionado mediante los diferentes modelos de quemadura, con una proliferación abundante de queratinocitos basales y una recuperación de la lesión, con presencia de costra y crecimiento de pelo. Esto concuerda con lo esperado y conforme a lo reportado en estudios piloto previos del EACRA-13, en donde se reporta que presenta un efecto inmunoestimulador.

Este efecto reepitelizante, es debido posiblemente a la regulación en los procesos de reparación tisular a través de la estimulación en la formación y migración de los

queratinocitos en el estrato basal. Aunque no se conocen del todo los mecanismos que regulan esta proliferación celular, proteínas del tipo hormonal como el factor de crecimiento epidérmico (EGF, del inglés epidermal growth factor), el factor de crecimiento transformante alfa (TGF α , del inglés transforming growth factor) y el factor de crecimiento de los queratinocitos (KGF o FGF7, del inglés, keratinocyte growth factor o fibroblast growth factor 7), desempeñan un papel importante en dicha regulación (Tortora, 2008 y Portas, 2002). Sin embargo, se deberían de realizar más estudios para poder identificar el mecanismo de acción, así como, los metabolitos que contiene el EACRA-13.

Se puede observar también que en las lesiones tratadas tanto con los geles como con los tratamientos de referencia se disminuyó el tiempo de recuperación de la lesión respecto al grupo control (evolución espontánea), el tiempo se redujo de 10 días en el control a 5 días en las lesiones bajo tratamiento. Lo cual concuerda con lo reportado en la literatura, ya que los tratamientos de referencia (Recoveron[®] y Fitoestimulina[®]) ayudan a acelerar el proceso de cicatrización, reactivando los procesos de neoformación epitelial, proporcionando así las condiciones para una reepitelización rápida y eficiente (PLM, 2013). Sin embargo, se puede apreciar que el tratamiento de las lesiones con Recoveron[®] dio un mejor resultado en cuanto a la recuperación de las quemaduras respecto al tratamiento con Fitoestimulina[®].

Por el contrario, las lesiones bajo tratamiento con sulfadiazina de plata no presentaron una buena recuperación del tejido, lo cual era de esperarse, ya que, aunque la sulfadiazina de plata se ha utilizado ampliamente como tratamiento de referencia en quemaduras para prevenir infecciones debido a su amplio espectro de acción antimicrobiano, éste al ser solamente un antimicrobiano no favorece el proceso de cicatrización. De igual forma, las quemaduras bajo tratamiento con los geles 1 y 11, no presentaron recuperación de la lesión, lo cual se esperaba puesto que, estos geles no contenían el principio activo (EACRA-13), solamente contenían la base, tanto con colágeno como sin él, esto también ayudó a descartar la posibilidad de que el efecto regenerador se debiera al colágeno y no al EACRA-

13, ya que existe la creencia dentro de la cosmética, de que el colágeno aplicado en forma tópica ayuda a estimular la regeneración de la piel, sin embargo, esto no ha sido comprobado.

En la Tabla 24 se muestra un comparativo de los resultados obtenidos del estudio histopatológico del efecto reepitelizante de los geles empleados en los diferentes modelos de quemadura, en donde se puede apreciar que los incisos D y E, mantienen una puntuación de 3 en todos los geles, lo que significa que, tanto la dermis como la hipodermis están presentes o evidentes. Esto representa que el tejido mantiene las características fisiológicas esperadas para una quemadura de primer grado o una Tipo A flictenular. Mientras que los incisos C y G evidencian la regeneración tisular, donde se aprecia que tanto el gel 7 como el 9, presentaron las puntuaciones más altas, por el contrario los geles 1 y 11 obtuvieron los valores más bajos.

De acuerdo con los resultados obtenidos de las pruebas de calidad de las formulaciones propuestas (Tabla 15) y de la evaluación de la actividad reepitelizante (Tabla 24), se pudo seleccionar a la propuesta de formulación final, la cual corresponde a la formulación número 7.

Esta formulación fue elegida, ya que, cumplió con las especificaciones de calidad y presentó el mejor efecto reepitelizante sobre quemaduras de primer grado en ratas cepa Wistar.

Por otro lado, ya que el producto elaborado es un preparado de plantas presentado en una forma farmacéutica (gel) con fines curativos, este podría ser clasificado dentro de la LGS como medicamento herbolario, sin embargo, como su eficacia terapéutica y seguridad apenas se está comprobando científicamente, su clasificación correspondería a la de remedio herbolario. (LGS, 2014).

Capítulo 8. Conclusiones

- El ensayo de toxicidad aguda en *Artemia salina* indica que el EACRA-13 presenta actividad biológica, tanto por el método de decocción, como por el método de infusión, obteniéndose una CL_{50} de 398.1 $\mu\text{g/mL}$ y 402.7 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, considerándose al extracto como un compuesto natural bioactivo moderadamente tóxico.
- Se logró obtener una propuesta de formulación adecuada de un gel de uso tópico que pueda servir como vehículo para el EACRA-13.
- El producto elaborado cumplió con las especificaciones de calidad propuestas.
- La prueba de irritabilidad dérmica en piel de conejos indica que el producto elaborado es no irritante y es apto para consumo humano.
- Los modelos propuestos de quemadura en piel de rata cepa Wistar son reproducibles y con lesiones cutáneas delimitadas. Las quemaduras producidas fueron de tipo A (eritematoso y flictenular).
- El gel con el EACRA-13 presentó un efecto positivo sobre la regeneración de tejido al ser evaluado en modelos de quemaduras de primer grado en ratas cepa Wistar.
- El EACRA-13 contiene metabolitos que inducen la proliferación celular de los queratinocitos basales, sin embargo, se desconoce la naturaleza de dichos metabolitos, así como su mecanismo de acción.
- El gel con el EACRA-13 presentó una acción reepitelizante parecida a la de los tratamientos de referencia (Recoveron[®] y Fitoestimulina[®]).

- El gel con el EACRA-13 presentó una acción cicatrizante superior al tratamiento con sulfadiazina de plata.
- En conclusión, el extracto acuoso CRA-13 a una concentración de [50 mg/mL], presentado en una forma farmacéutica (gel de uso tópico), posee actividad reepitelizante al ser aplicado sobre quemaduras de primer grado o tipo A en ratas cepa Wistar.

Referencias

1. Alca, E., Del Solar, M., Bravo, F. (2009). Efecto de la xantopterina en la cicatrización de heridas por quemaduras en ratas. *Folia dermatol* ; 20 (1): 13-17
2. Alfaro, M. (2003). Quemaduras. Consultado en <http://www.binasss.sa.cr/quemaduras.pdf>
3. ANVISA. (2005). Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Consultado en www.anvisa.gov.br
4. ATPPLLEAL. (2008). Tablas de viscosidad. Aplicaciones técnicas proceso productivos. Obtenido de www.atpplleal.com
5. Aulton, M.E. (2004). *Farmacología: Ciencia y diseño de formas farmacéuticas*. España: Editorial Elsevier.
6. Barcardí, P. (2004). Opciones a la práctica preclínica y modelos animales bajo principios éticos. Obtenido en <http://www.bioeticaweb.com>
7. Beheshtia, A., Shafighb, Y., Zangivand, A., Samiee-Rad, F., Hassanzadehb, G. y Shafighb, N. (2013). Comparison of topical Sucralfate and Silver Sulfadiazine Cream in second degree burns in rats. *Adv Clin Exp Med*, 22, 4, 481–487
8. Benavides, J. (2008). Reparación de heridas cutáneas. *Rev Asoc Col Dermatol*. Volumen 16, N.1: 29-35. Obtenido de www.revistasocolderma.com
9. Bermudez-Campos, I., García-Simón, G., Martínez-Suárez, E., Díaz-Hernández, K. (2001). Evaluación de la irritabilidad dérmica, oftálmica y el efecto sensibilizante de la crema ulceprol. *Anuario Toxicología*; 1(1):93-7
10. Bhargavi, S., Swamy, V., Bilal, S., Chitra, K.P., Bhimavarapu, R.D. (2012). Effect of *Solanum erianthum* leaves on burn wound healing in Wistar rats. *PHARMANEST*, 03; 3-4. Consultado en www.pharmanest.n
11. Brown, T., LeMay, L., Eugene, H., Bursten, Bruce E. (2006). *Química, la Ciencia Central*. (7 ed.) México: Pearson Educación.
12. Buhse, L.; Kolinski, R.; Westenberger, B. et al. (2005). Topical drug classification. International. *Journal of Pharmaceutics*, 295, 101–112.
13. Bustamante, R. (2012). *Cernimiento neurofarmacológico de dos análogos de la melatonina en ratones CD1*. Tesis de doctorado, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, D.F, México.
14. Cabral, L.M., Ferreira, L.M., Simões, M.J. & Mora, A.O. (2003). Experimental model of double wounds on the rats back, in order to study the skin cicatrization process on rat treated with cellulose coat. *Acta Cir Bras*, Vol 18. Consultado en <http://www.scielo.br/acb>.
15. Cea, R. (2014) Fitofármacos. Consultado en <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/4591/Publicaci%C3%B3n%20de%20Fitof%C3%A1rmacos.pdf>
16. CENAM. (2007). Manual de buenas prácticas de laboratorio. (3ªed.). México; Centro Nacional de Metrología.
17. Cortés, A. (2009). *Evaluación de un gel de kiwi (Actinidia deliciosa) para determinar si tiene efecto cicatrizante en conejo (Oryctolagus cuniculus) y cobayo (Cavia porcellus)*.

- Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F, México.
18. Cortés, J. (2005). *Actividad biológica de extractos de plantas usadas para el tratamiento del cáncer e infecciones en Tepatepec, Hidalgo*. Tesis de licenciatura, Instituto de ciencias básicas e ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca de Soto, Hidalgo, México.
 19. Devgan, L., Bhat, S. Aylward, S., Spence, R. (2006). Modalidades para la evaluación de la herida. Quemaduras profundidad. *Journal of Burns and Wounds* ; 5
 20. Durgaprasad, S., Reetesh, R., Hareesh, K. & Rajput, R. (2011). Effect of a topical curcumin preparation (*BIOCURCUMAX*) on burn wound healing in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences (JPBMS)*, 08 (23). Consultado en <http://www.jpbums/>
 21. Fitzpatrick, T. (2009). *Dermatología en Medicina General*. (7ª ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
 22. García-Piña, C.A., Loredó-Abdalá, A. & Trejo-Hernández, J. (2008). Quemaduras intencionales en pediatría. Un mecanismo poco considerado de maltrato físico. *Acta Pediatr Mex* ;29(1):9-15
 23. Gelesfarmaciaucr (2010). Geles. Disponible en <http://gelesfarmaciaucr.blogspot.mx/>
 24. Gennaro, A. (2003). *Remington Farmacia*. (20ª ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana
 25. Gómez-Morell, P.A, Palao-Doménech, R. (2007). Tratamiento local de las quemaduras. *JANO*. N.º 1.657. Consultado en www.doyma.es/jano 37
 26. González-Darder, J. M. (2000). Modelos animales de dolor y aspectos éticos de la experimentación animal. *Rev Soc Esp Dolor*; 7: 313-318
 27. González- Escobar, R. (2002). Modelos experimentales para la evaluación de la acción cicatrizante de medicamentos. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. *Rev Cubana Farm*;36(3):189-96
 28. González-Pérez, Y., Aportela-Gilling, P. (2001), Determinación de la toxicidad aguda del dicromato de potasio en larvas de *Artemia salina*. *Anuario Toxicología*;1(1):104-8
 29. Hidalgo, O. (2010). *Determinación del efecto cicatrizante del extracto acuoso de la planta Bacopa procumbens en la línea celular 3T3 de fibroblastos de ratón*. Tesis de maestría, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, Instituto Politécnico Nacional, D.F, México.
 30. Huerta-Ramírez, M.C. (2004). *Desarrollo de una crema con aceite esencial del árbol del té (Maleluca alternifolia)* Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F, México.
 31. Irache, J. M. (2008). Formas farmacéuticas destinadas a la vía percutánea. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Navarra. Consultado en www.unav.es/farmytec/galenica2/PAG-WEB.../TF2-8-TOPICA-2008.pdf
 32. Juvé, J.; Viscasillas, A.; Del Pozo, A. (2007) . Geles en dermofarmacia. Conceptos generales y elementos para su formulación. *Aula de la Farmacia*. Consultado en http://www.auladelafarmacia.com/resources/files/2011/8/22/1313999897544_revAulFarm_migr_AULA_delafarmacia_N36_-_Medicamentos_y_Servicios_Profesionales_2.pdf
 33. Khorasani, G., Hosseinimehr, S.J., Zamani, P., Ghasemi, M. & Ahmad, A. (2008). The effect of saffron (*Crocus sativus*) extract for healing of second-degree burn wounds in rats. *Keio J Med*; 57(4): 190–195.

34. León, M.B., Brechú, A., García, L.J., Baños, G.C., Peña, J.C. (2009). Modelo animal para evaluar lesiones cutáneas por quemadura térmica: estudio preliminar. *LABORAT-acta*, Vol. 21 Núm. 2
35. Leppard, B. Ashton, R. (1994). *Tratamiento en Dermatología*. Radcliffe Medical Press. Oxford.
36. López-Hernández, Z., Lorenzo-Monteagudo, G., Monteagudo-Jiménez, E., Betancourt-Clemente, M., & Arias-Gallardo, A.I. (2000). Ensayo de irritabilidad dérmica de productos cosméticos elaborados a partir de placenta humana. *Acta Farm. Bonaerense*, 19 (1) : 41-4
37. Lovesio, C. (2006). Quemaduras graves. *Libro virtual Intramed*. Consultado en http://www.intramed.net/sitios/libro_virtual3/pdf/5_10.pdf
38. Martínez-Fraga, J. (2012). Cosmetología. Tema 3: Los Cosméticos: Características Generales. Consultado en <http://www.elmodernoprometeo.es/>
39. Márquez-Ramírez, S.G. (2004). *Desarrollo del gel y reformulación de un jabón facial de kiwi (Actinidia deliciosa)*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F, México
40. Mitsunaga, J.K., Gagnani, A., Christóvão-Ramos, L., Ferreira, L.M. (2012). Rat an experimental model for burns. A systematic review. *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol. 27 (6) - 417*
41. Montero-González, T., Hurtado de Mendoza, J., Cabrejas-Acuñas, O., Almarales-Acosta, M. (2002) Histopatología del daño múltiple de órganos en un modelo experimental de ratón quemado. *Rev Cubana Med Milit* ;31(1):13-22
42. Montero- González, T., Moreno- Quintana, P., Berlanga- Acosta, J., Hurtado- de Mendoza, J., Bacardi- Fernández, D. (2003).Modelo experimental de ratón quemado en investigaciones biomédicas. *Rev Cubana Med Milit*; 32(2):94-102
43. Morales-Molina, J.A.; Grau, S., Jiménez-Martín, J.; Mateu-De Antonio, J. Espona, M.; Berges-Fraile, M.J.; Zarzuelo, A.; Salas, E. (2006). Quemaduras solares: fotoprotección y tratamiento. *Ars Pharm* 47 (2): 119-135.
44. NAP. (2011). Guide for the care and use of laboratory animals. National Research Council. Consultado en http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=12910
45. Navarro, E.; Ávila, J.A.; Mollinedo, P.; Vila, J.L.; Ruiz, G. (2010). Valoración de la toxicidad aguda in vivo del ácido úsnico. *Revista Boliviana de Química*. Volumen 27 N°1.
46. Nieto-Valle, C.A. (2011). *Propuesta de formulación de una crema oxigenate conteniendo peróxido de hidrogeno (H₂O₂) y su evaluación para determinar sus beneficios en la piel mediante un estudio piloto*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F, México.
47. Núñez, LM. (2013). *Desarrollo de un gel exfoliante a partir del extracto acuoso de Physalis ixocarpa Brot. y su evaluación dérmica en conejo Nueva Zelanda*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F, México
48. Oruña-Sánchez, L., Lago- Mendoza, G. & Coto- Valdés, G. (2004). Efecto del Ácido Hialuronico en la cicatrización de heridas en ratas. VI. Congreso virtual hispanoamericano de anatomía patológica. Consultado en <http://conganat.uninet.edu/6CVHAP/autores/trabajos/T406/index.html>
49. Osorio-Durango, E.J. (2009). Aspectos básicos de Farmacognosia. Consultado en <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/Farmacognosia.pdf>

50. Pacci-Salazar, K., Nureña-Noriega, L., Vásquez-Cerro, J., Araujo-Espinoza, G., Gálvez-Niño, M. (2009). Eficacia tópica de *Myrciaria dubia* en la curación de quemaduras de segundo grado en ratas Holtzman. *CIMEL*, Vol. 14, Nº 1.
51. P.A.U.E. Plan Andaluz de Urgencias y Emergencias. (2000). Manejo del paciente quemado. Consultado en <http://www.epes.es/>
52. PLM[®] (2013). Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Consultado en <http://www.medicamentosplm.com/>
53. Portas, M., Pomerane, A., Genovese, J. et al. (2002.) Diagnostico y tratamiento de las quemaduras radioinducidas. Hospital de Quemados del gobierno de la ciudad de Buenos Aires
54. Quiroga, J.C.; Pinto, J.; Zabalaga, S.; Escobar, M.; & Zurita A. (2007). Formulación de un producto galénico para el tratamiento de quemaduras con extractos de: *Aloe vera*, *Schinopsis haenkeana*, *Propolis* y *Myrciaria dubia*. Universidad Mayor de San Simón. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. Programa de Fármacos Alimentos y Cosméticos Profac. Consultado en <http://www.umss.edu.bo/revistasb.php>
55. Ramos-Gallardo, G., Ambriz- Plascencia, A.R., Medina- Preciado, D., Portilla de Buen, E., Rodríguez- Madrigal, R., Ochoa, F., et al. (2012) Uso de esteroides sistémicos en quemaduras de segundo grado en modelo animal. *Cir.plást. iberolatinoam*. Vol. 38 - Nº 2; 153-156
56. Redrobán, KF. (2012). *Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro (Nasturtium officinale) y llantén (Plantago major) en ratones (Mus musculus)*. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador, Ecuador.
57. Restrepo, J.; Borrero, J.; Rojas, W.; et al. (2010). *Terapia dermatológica*. (3ª ed.). Bogotá, Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas.
58. Rivera, E. (2004) Fisiología de la cicatrización. Consultado en http://www.medicosecuador.com/librosecng/articuloss/1/fisiologia_de_la_cicatricacion.htm
59. Rojas, N., Avilés, R., Villacaqui, E., Neira, E., Ramos, W., Santiago, J. (2011). Tratamiento de quemaduras con películas obtenidas por radiación gamma que contienen extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*) en animales de experimentación. *Dermatología Peruana*; vol. 21 (1)
60. Rojas, O. (1999). Introducción a la reología. *Cuaderno FIRP S520-B*. Consultado en <http://www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S520B.pdf>
61. Romero, O. (2004). Aceptación de los fitofármacos por médicos y pacientes en clínicas de atención primaria. *Rev Med IMSS*; 42 (2): 125-130. Consultado en <http://www.iqb.es/monografia/fichas/ficha130.htm>
62. Ross, M.H.; Pawlina, W. (2007). *Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular*. (5ª ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
63. Sánchez, L.; Neira, A. (2005). Bioensayo general de letalidad en *Artemia salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium guajava*. L y *Psidium guineense*. *Sw. Cultura Científica*. Fundación universitaria Juan de Castellanos.
64. Sánchez, C.G. (2004). *Evaluación fisicoquímica y microbiológica de jabones hechos de productos naturales: Kiwi (Actinidia chinensis), amaranto (Papaver roheas L.) y Avena (Avena sativa L.)*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F, México.

65. Schencke, C.; Salvo, J.; Veuthey, C.; Hidalgo, A. & Del Sol, M. (2011). Cicatrización en quemaduras tipo AB-B utilizando miel de ulmo asociada a vitamina C oral. *Int. J. Morphol.*, 29(1):69-75
66. Schüep, W. (1997). *Análisis de vitaminas en alimentos*. Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Consultado en <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/ah833s19.htm>
67. Sigler, L., Krotzsch, E., Bretón-Mora, F., Padilla, L., DiSilvio, M. & Álvarez-Jiménez, R. (2011). Heparina en quemaduras de segundo grado profundo en un modelo murino. *Cirujano General*, Vol. 33 Núm. 2. Consultado en <http://www.medigraphic.com/cirujanogeneral>
68. Schwartz, R.J., Chirino, C.N., Sáenz, S.V. y Rodríguez, T.V (2008). Algunos aspectos del manejo del paciente quemado en un servicio de cirugía infantil a propósito de 47 pacientes pediátricos. 2a. parte. *Rev Argent Dermatol*; 89: 165-173.
69. Sciaraffia, C., Andrades, P. y Wisnia, P. (s.f.). Quemaduras. *Cirugía Plástica Esencial*. Consultado en http://www.redclinica.cl/HospitalClinicoWebNeo/CONTROLS/NEOCHANNELS/Neo_CH_6258/Deploy/7_quemaduras.pdf
70. Tortora, G.J.; Derrickson, B. (2008). *Principios de anatomía y fisiología*. (11^a ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
71. Universidad de Vigo. Atlas de histología vegetal y animal. Consultado 10-12-2013 en <http://webs.uvigo.es/mmegias/inicio.html>
72. Vanda-Cantón, B. (2003). La experimentación biomédica en animales en los códigos bioéticos. *Laborat-acta*; 15; 69-73
73. Valencia- Basto, C. (2010). Cicatrización: Proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas. *Investigaciones Andina*. No. 20 Vol. 12
74. Velandia, DA. (2009). *Evaluación de la actividad cicatrizante y caracterización fitoquímica de Dracontium croatii*. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia.

NORMATIVIDAD

75. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos FEUM (2004). Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, (8^a ed.), México.
76. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 31: NF 26. (2008). Rockville, Maryland: United States Pharmacopeial Convention.
77. Ley General De Salud. (1984) .Secretaría de Salud. Última reforma publicada DOF 15-01-2014
78. Norma Oficial Mexicana NOM-039-SSA1-1993, Bienes y servicios. Productos de Perfumería y Belleza. Determinación de los Índices de Irritación ocular, primaria dérmica y sensibilización.

79. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
80. Norma Oficial Mexicana NOM-072-SSA1-2012, Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios
81. Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2005, Estabilidad de fármacos y medicamentos.

Anexo 1

Determinación de la viscosidad

Para encontrar la viscosidad, se multiplicó la lectura promedio obtenida por el factor correspondiente al número utilizado de aguja y las revoluciones por minuto empleadas en la prueba, según lo especificado en el MGA 0951, FEUM 8^{va} edición.

El cálculo se realizó de la siguiente manera:

Lectura promedio del gel número 7 = 14.5

Factor correspondiente al número de aguja (N.6) y 50 rpm = 200

Lectura promedio X factor correspondiente = Viscosidad en cps.

$$14.5 \times 200 = 2800 \text{ cps.}$$

Anexo 2

Prueba de irritación en piel de conejos

Para fines de esta prueba se entiende por:

Edema: inflamación producida por acumulación excesiva de líquido seroalbuminoso en el tejido celular, debida a diversas causas.

Eritema: enrojecimiento difuso o en manchas de la piel producido por la congestión de los capilares, debido a diversas causas.

Irritación dérmica: alteración fisiológica de la piel provocada por algún agente físico, químico o biológico.

Evaluación de la reacción cutánea

La evaluación de la reacción cutánea se llevó a cabo según lo especificado en la NOM-039-SSA1-1993 y con base en el MGA 0515 de la FEUM 8^{va} edición, como se muestra en las Tablas 27 y 28.

Tabla 27. Evaluación de la presencia de eritema.

Reacción cutánea (eritema)	Calificación
No eritema	0
Eritema ligero, apenas perceptible	1
Eritema bien definido	2
Eritema de moderado a severo	3
Eritema severo (rojo betabel)	4

Tabla 28. Evaluación de la presencia de edema.

Reacción cutánea (eritema)	Calificación
No edema	0
Edema ligero apenas perceptible	1
Edema ligero con bordes sobresalientes con elevación definida	2
Edema moderado (elevación máxima de 1 mm aproximadamente)	3
Edema severo (elevación mayor de 1 mm extendiéndose más allá del sitio de aplicación)	4

Una vez obtenidas las lecturas de eritema y edema, promediar las calificaciones por separado. A partir de estos promedios, calcular el índice de irritación primaria (IIP) como sigue:

$$\text{IIP} = \text{promedio de eritema} + \text{promedio de edema}$$

Interpretación de los resultados

Con base en el índice de irritación primaria, los productos podrán ubicarse en alguna de las siguientes categorías, presentadas en la Tabla 29:

Tabla 29. Índice de irritación primaria y categorías.

IIP	Categoría
0-1	No irritante
1,1 - 2	Ligeramente irritante
2,1 - 5	Moderadamente irritante
5,1 - 6	Irritante moderado a severo
6,1 - 8	Irritante severo

Criterio de aceptación

- Todos los productos para uso en bebés deberán tener un índice de irritación primaria no mayor de 2.
- El producto que tenga un índice de irritación primaria no mayor de 5 será aceptado como un producto apto para uso en adultos.
- Cuando un producto obtenga una calificación entre 5.1 y 6.0 deberá optar por cualquiera de las tres alternativas siguientes:
- Ostentar la leyenda "Precaución, este producto es irritante", o repetir la prueba en animales vírgenes, si los resultados de esta segunda prueba confirman los obtenidos en la primera, deberá optarse por la alternativa anterior. Si el índice de irritación primaria obtenido en la segunda prueba tiene un valor aceptable conforme a lo que se establece, el producto será considerado apto para uso humano.
- Los productos que tengan una calificación mayor de 6 no serán aceptados para su uso en humanos.

Anexo 3

ARGENTAFIL[®] Crema

(Sulfadiazina de plata)

Antimicrobiano bactericida de amplio espectro a nivel tópico.

Indicaciones terapéuticas:

Está indicado en piodermias como: impétigo primario, secundario y ectima. Tratamiento y profilaxis de infecciones en úlceras de decúbito, varicosas, úlceras del diabético, quemaduras y heridas quirúrgicas. También como adyuvante de la cicatrización.

Dosis y vía de administración:

Se aplica a nivel cutáneo. Se deberá limpiar y desbridar la quemadura, previo a la aplicación. Con guante estéril se aplica una a dos veces por día, dejando un espesor de aproximadamente 1 a 3 mm. Cuando sea necesario, la crema que haya sido removida por la actividad o movimiento del paciente puede reaplicarse. No es necesario aplicar apósitos o vendaje oclusivo.

RECOVERÓN C[®] ungüento

(Acexamato de sodio)

Cicatrizante y regenerador tisular.

Indicaciones terapéuticas: Está indicado en heridas sin infección donde se desee acelerar el proceso de cicatrización tales como heridas traumáticas, quirúrgicas, episiotomías, úlceras varicosas, úlceras de decúbito, quemaduras de 1^o y 2^o grado y grietas del pezón.

Dosis y vía de administración:

Cutánea. Aplicar una a dos veces al día, previa asepsia y antiasepsia de la(s) herida(s). Para mejores resultados se aconseja aplicar sobre una gasa, en lugar de hacerlo directamente sobre la herida. Al contacto con la piel, el ungüento tiende a diseminarse, por lo que se debe prever no manchar la ropa.

FITOESTIMULINA[®] Crema

(Extracto acuoso de *Triticum vulgare*)

Auxiliar en la cicatrización cutánea.

Indicaciones terapéuticas:

Tratamiento tópico, en general, de todas las alteraciones del tejido dérmico que necesitan reactivación de los procesos de neoformación epitelial o que presenten manifestaciones de quinismo hístico alterado.

- Quemaduras de cualquier grado y extensión.
- Alteraciones ulcero-distróficas (úlceras por decúbito, llagas).
- Retrasos en la cicatrización de heridas.
- Cirugía plástica y estética.
- Dermatitis, costra láctica, dermatitis del pañal.

Dosis y vía de administración:

Aplicar suavemente suficiente cantidad para cubrir la lesión, dos veces al día por vía tópica. La duración del tratamiento se determinará de acuerdo a la respuesta de la lesión.