

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Formulación de una crema elaborada a base del
extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria
rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR EL:

Bach. QUISPE GARAVITO, Vladimir

AYACUCHO-PERÚ

2015

Biblioteca U.N.S.C.H.

INGRESO: 185231

Tesis
Far 423
Qui
G. 2

R. D. N° 273 - FC de la S - UNSCH - 2015
BACH. QUISPE GARAVITO VLADIMIR

En la ciudad de Ayacucho, a los diez días del mes de diciembre del dos mil quince siendo las cuatro de la tarde, en el auditorio del departamento académico de la Facultad de Ciencias Biológicas, se reunieron los miembros del jurado evaluador de la tesis titulada: Formulación de una crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015 conformado por:

- Dr. Emilio Ramírez Roca.
- Mg. Maricela López Sierralta.
- Mg. Edgar Cárdenas Landeo.
- Q.F. Juan Paniagua Segovia.

Bajo la presidencia del decano de la Facultad de Ciencias de la Salud Doctor Emilio Ramírez Roca, actuando como secretario el Mg. Marco Arones Jara. Acto seguido el decano solicita al secretario de lectura los documentos que refrenda el presente acto.

A continuación el presidente invita al sustentante a dar inicio a la exposición, durante cuarenta y cinco minutos.

Concluida esta etapa de exposición, el presidente invita a los miembros del jurado a realizar las preguntas y las observaciones pertinentes.

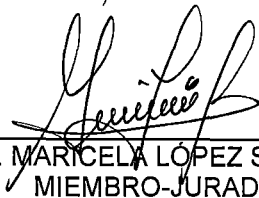
Luego de esta etapa el presidente del jurado evaluador solicita al sustentante y al público presente a abandonar momentáneamente el auditorio para la deliberación y calificación, en los siguientes rubros:

JURADO CALIFICADOR	NOTA DE TEXTO	NOTA DE EXPOSICION	NOTA DE PREGUNTAS	PROMEDIO
Mg. MARICELA LÓPEZ SIERRALTA	16,0	16,0	16,0	16,0
Mg. EDGAR CÁRDENAS LANDEO	16,0	17,0	17,0	17,0
Q.F. JUAN PANIAGUA SEGOVIA	17,0	17,0	17,0	17,0
Mg. MARCO ARONES JARA	17,0	17,0	17,0	17,0
PROMEDIO	17,0	17,0	17,0	17,0

Concluyéndose en aprobar por unanimidad al Bach. En Farmacia y Bioquímica, con la nota aprobatoria de DIECISIETE (17). Así mismo se propone levantar las observaciones que se plasman en los formatos de calificación de sustentación de tesis, formatos de resumen de la hoja de calificación, para dar fe de lo actuado el jurado evaluador firma al pie de la presente acta. Siendo las seis de la tarde, se concluye con el acto de sustentación.


Q.F. JUAN PANIAGUA SEGOVIA
MIEMBRO-JURADO


Mg. EDGAR CÁRDENAS LANDEO
MIEMBRO-JURADO


Mg. MARICELA LÓPEZ SIERRALTA
MIEMBRO-JURADO


Mg. MARCO ARONES JARA
ASESOR


DR. EMILIO RAMÍREZ ROCA
DECANO

A mis padres, hermanos, esposa e
hija Zoe Danae.

AGRADECIMIENTOS

A mi *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que hicieron posible mi formación profesional.

A mi asesor, el Mg. Q.F. ARONES JARA, Marco Rolando, asesor del presente trabajo de investigación, por el apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación.

Al Q.F. LUNA MOLERO, Hugo Roberto, por el apoyo y paciencia en la conducción del presente trabajo de investigación.

A todas las personas que me brindaron su apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación, cuyos esfuerzos se materializan en este informe.

ÍNDICE GENERAL

	Página
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero"	5
2.3. Flavonoides	6
2.4. Compuestos fenólicos	6
2.5. Proceso de atomización	6
2.6. Estudios de formulación de formas farmacéuticas semisólidas	7
2.7. Estudios de pre-formulación	9
2.8. Estabilidad	10
2.9. Estudios de pre-estabilidad	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Ubicación	13
3.2. Población y muestra	13
3.3. Procedimiento para la recolección de datos	13
3.3.1. Recolección de la muestra	13
3.3.2. Obtención del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero"	14
3.3.3. Identificación de compuestos químicos del extracto atomizado	14
3.3.4. Evaluación de los parámetros fisicoquímico del extracto atomizado	14
3.3.5. Cuantificación de fenoles	16
3.3.6. Formulación de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero"	17
3.3.7. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero"	19
3.3.8. Parámetros de pre-estabilidad	20
3.3.9. Control de calidad microbiológico de la crema	20
3.4. Tipo y diseño de investigación	22
3.5. Análisis de datos	22
IV. RESULTADOS	23

V.	DISCUSIÓN	35
VI.	CONCLUSIONES	39
VII.	RECOMENDACIONES	41
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	43
	ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1.	Características fisicoquímicas del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	24
Tabla 2.	Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	25
Tabla 3.	Características organolépticas y fisicoquímicas de la crema (fórmula 1,2 y 3) elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	26
Tabla 4.	Variación de las características organolépticas y fisicoquímicas en la crema (fórmula 2) elaborada a base extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero" en un estudio de pre-estabilidad. Ayacucho, 2015.	27
Tabla 5.	Control microbiológico de la crema (fórmula 2), elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero", en un estudio de pre-estabilidad. Ayacucho, 2015.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Variación del índice de extensibilidad evaluado a la crema (fórmula 2), con pesos de 50g,100g, 200g, 500g, elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	28
Figura 2. Variación del peso promedio evaluado a la crema (fórmula 2), elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	29
Figura 3. Variación del pH evaluado a la crema (fórmula 2), elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	30
Figura 4. Cuantificación de ácido caféico en la crema (fórmula 2), elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero" en un estudio de pre-estabilidad (luz UV). Ayacucho, 2015.	31
Figura 5. Cuantificación de ácido caféico en la crema (fórmula 2), elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero" en un estudio de pre-estabilidad (tres meses a 30°C). Ayacucho, 2015.	32

ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo 1.	Certificado de identificación de la <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	46
Anexo 2.	Fotografía de las hojas y flores de la <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	47
Anexo 3	Concentración del polvo de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Realizado en el laboratorio de control de calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, 2015.	48
Anexo 4.	Concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero" realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, 2015.	49
Anexo 5.	Fotografía del atomizador Spray Driver B290 del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos. Ayacucho, 2015.	50
Anexo 6.	Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso atomizado de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	51
Anexo 7.	Flujograma de cuantificación del estándar ácido caféico a diferentes concentraciones. Ayacucho, 2015.	52
Anexo 8.	Preparación del estándar ácido caféico a diferentes concentraciones. Ayacucho-2015.	53
Anexo 9.	Lectura de la solución estándar de ácido caféico a diferentes concentraciones más la muestra del atomizado de "romero" en el espectrofotómetro UV vis. En el laboratorio de cinética y estabilidad de medicamentos de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, 2015.	54
Anexo 10.	Curva de calibración para la cuantificación de ácido caféico en la crema (fórmula 2), elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	55
Anexo 11.	Formulación de la crema a base del extracto atomizado de <i>calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Realizado en el laboratorio de control de calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, 2015.	56
Anexo 12.	Producto terminado de las formulas 1, 2 y 3; realizado en el laboratorio de la Oficina Farmacéutica de la Cadena de Boticas QF. Ayacucho, 2015.	57
Anexo 13.	Producto terminado elegido, formula 2 elaborada en el laboratorio de la Oficina Farmacéutica de la Cadena de Boticas QF. Ayacucho, 2015.	58
Anexo 14.	Evaluación de pH a la crema (formula 2) elaborada en el laboratorio de la Oficina Farmacéutica de la Cadena de Boticas QF. Ayacucho, 2015.	59

Anexo 15.	Cuantificación de fenoles presentes en la crema (formula 2) elaborada en el laboratorio de la Oficina Farmacéutica de la Cadena de Boticas QF. Ayacucho, 2015.	60
Anexo 16.	Preparación de inóculo con caldo lauril sulfato de sodio. Ayacucho, 2015.	61
Anexo 17.	Preparación de inóculo de la crema de "romero" con caldo lauril sulfato de sodio. Ayacucho, 2015.	62
Anexo 18.	Índice del NMP con 95% de límite de confianza para varias combinaciones de resultados positivos y negativos. Ayacucho, 2015.	63
Anexo 19.	Lectura de resultados positivos y negativos por el método NMP de la crema de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero". Ayacucho, 2015.	64
Anexo 20	Matriz de consistencia	65

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se ejecutó en la oficina farmacéutica de cadena de Boticas QF, en los laboratorios de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y se realizó con el objetivo de formular una crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* "romero". Se recolectó las hojas de *Calceolaria rupestris* "romero" en el centro poblado de Anchac - Wasi (Huaraca) del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. Se desarrolló tres formulaciones de la crema al 1% a base de extracto hidroalcohólico atomizado. Se realizó estudios de pre-estabilidad (exposición a Luz UV y Temperatura a 30 °C), durante el cual se evaluó sus características organolépticas y fisicoquímicas, así como el porcentaje de ácido caféico por el método de Folin Ciocalteau.

El extracto atomizado tuvo un olor aromático, sabor amargo, es de color marrón claro y tiene un aspecto resinoso. Es muy soluble en metanol, con pH igual a 6,60; con una humedad de 6,65%; cenizas 5,19%; un rendimiento de 9,37%.

Se elaboraron tres formulaciones de crema con el polvo atomizado donde se determinó que la fórmula 2 fue la más adecuada para la formulación de la crema al 1% a base de extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de *calceolaria rupestris* Molau "romero", por las características tanto organolépticas como fisicoquímicas que esta presentaba y la óptima incorporación del atomizado. Donde la crema elegida (fórmula 2), presentó un aspecto homogéneo suave, de color beige claro, aromático y un pH de 3.95. Del control de calidad microbiológico, la crema es conforme por presentar lecturas ausentes de bacterias coliformes y *Escherichia.coli*.

Del estudio de pre-estabilidad, se sometió a la crema en estudio a Luz UV por tres días consecutivos, también se sometió a la crema en estudio a Temperatura de 30°C por 1, 30 y 90 días. Donde se observó que no hubo variación estadísticamente significativa en la evaluación de los parámetros organolépticos y fisicoquímicos.

Los resultados de cuantificación de fenoles totales presentes en la crema, en un estudio de pre-estabilidad (Luz UV) al inicio a y los tres días observamos que presenta un $t=1,20$ donde nos indica que no existe variación significativa de la concentración de ácido caféico al inicio y a los tres días de evaluación. Así como también del estudio de pre-estabilidad (Temperatura a 30°C) por 1, 30 y 90 días, vemos que presenta un $t=0,49$ donde no hubo variación estadísticamente significativa en los porcentajes de ácido caféico frente a un $tt=2,57$.

Palabras clave: *Calceolaria rupestris* Molau "romero", crema, estudios de pre-estabilidad.

I. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional fue usada desde la antigüedad, en la cual diversas plantas medicinales fueron utilizadas para alimentar, curar enfermedades, aliviar dolores, etc. Las propiedades curativas de las plantas se atribuyen a la presencia de un principio activo, el cual produce en efecto fisiológico, que están siendo estudiadas científicamente por investigadores, de forma multidisciplinaria, con la intervención de biólogos, químicos, farmacólogos, farmacognocistas.¹

La amplia y variada flora peruana es y seguirá siendo uno de los recursos naturales más importantes por las investigaciones químicas y farmacológicas en estas plantas utilizadas en la medicina popular ha permitido que muchas industrias farmacéuticas elaboren productos a base de extractos de estos vegetales, con el fin de obtener un medicamento más seguro y estable, ya sea por proceso de liofilizado, atomizado y simple evaporación, los mismos que se comercializan como suplemento alimenticio, recurso natural y producto natural de uso en salud.²

Los sistemas semisólidos satisfacen una exigencia de las preparaciones de aplicación tópica, ya que, en general, poseen buena adherencia, lo que hace que permanezcan sobre la superficie de aplicación por un tiempo razonable hasta que se elimine por lavado.³

La estabilidad es la aptitud de un principio activo o de un producto para mantener sus propiedades originales dentro de las especificaciones relativas a su identidad, concentración o potencia, calidad, pureza y apariencia física.⁴

Por lo tanto la presente investigación está orientada a formular la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" sirva como una alternativa medicamentosa y cosmética.

Es así que se decidió llevar a cabo su estudio en los Laboratorios de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga cuyos resultados

quedan plasmados en este informe, como resultado de un estudio a nivel experimental para lo cual se plantearon los siguientes objetivos.

Objetivo General

Formular una crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas *Calceolaria rupestris* Molau "romero".

Objetivos Específicos

- Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero".
- Determinar la fórmula más adecuada para la elaboración de la crema a base del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero".
- Evaluar los parámetros fisicoquímicos y control microbiológico de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero".
- Realizar un estudio de pre-estabilidad (Luz UV y 30 °C) a la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero".
- Cuantificar los fenoles totales presentes en la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero", antes y después de someterlos a estrés térmico.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

A continuación se reportan estudios e investigaciones realizadas con *Calceolaria rupestris* Molau "romero":

Casanova,⁵ realizó un estudio sobre el extracto acuoso liofilizado de *Calceolaria cuneiformis* Subsp. *cuneiformis* "Ayapa zapatum", en el cual se determinó una buena actividad antioxidante y antiulcerosa, debido a la presencia de metabolitos secundarios como los flavonoides y taninos, obteniéndose mejores resultados a la dosis de 125 ug/ml.

Del Solar,⁶ estudio la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* kraenzl "wawillay", se encontró que la crema al 0,5 % con concentración de 100 ug/ml presentando mayor porcentaje de inhibición de radicales libres (99,46.±.0,11); respecto a las cremas al 1,0 % y 2,0 % que presentaron porcentajes de 99,10.±.0,46 % y 96,45.±.0,53 % respectivamente.

Romero y col,⁷ realizaron el tamizaje fitoquímico de la especie *Calceolaria engleriana* donde se demostró la presencia de compuestos fenólicos como: taninos, flavonoides y catequinas; los terpenoides como monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, triterpenos y/o esteroides y las quinonas. Así mismo, reportan la actividad antibacteriana del extracto de las especies del genero *Calceolaria*, frente a dos cepas gran positivas, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, tres cepas gran negativas *Escherichia coli*, *Salmonella tiphy* y *Pseudomonas aeuriginosa* y finalmente una levadura *Candida albicans*, donde se observa que la especie *Calceolaria engleriana* y *Calceolaria cuneiformis*, son las que tiene mayor actividad antimicrobiana.

Harty,⁸ en un estudio sobre *Calceolaria chelidonioides* Humb, planta que pertenece a la familia Scrophulariaceae, se aislaron flavonoides, apigenina, quercetina y rutina, utilizando diferentes técnicas espectroscópicas. La

evaluación de la actividad antioxidante, mediante el radical libre DPPH, mostró el siguiente orden con respecto a la energía para estas tres moléculas en la reducción de la molécula de DPPH: apigenina, rutina y quercetina (CI_{50} en $\mu\text{g/mL}$ = $30,3 \pm 1,9$; $23,7 \pm 2,4$ y $18,8 \pm 2,1$), los flavonoides son bien conocidos antioxidantes y usando el DPPH.

De la Cruz,⁹ realizó un estudio donde la actividad antioxidante de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" se determinó por el método de captación del radical libre DPPH, evaluándose a las concentraciones de 300 $\mu\text{g/ml}$, 600 $\mu\text{g/ml}$ y 900 $\mu\text{g/ml}$, a diluciones de 1, 25, 50 y 100 $\mu\text{g/ml}$ de cada uno de ellos respectivamente, expresándose los resultados como porcentaje de inhibición. Los mayores porcentaje de inhibición se obtuvieron a las diluciones de 100 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$ y 25 $\mu\text{g/ml}$ de la concentración de 300 $\mu\text{g/ml}$ del extracto con un $98,8 \pm 0,65$; $99,0 \pm 0,46$ y $86,5 \pm 6,46$ y a la concentración de 600 $\mu\text{g/mL}$ a las diluciones de 100 $\mu\text{g/ml}$ y 25 $\mu\text{g/ml}$ con un $98,0 \pm 0,37$ y $97,0 \pm 0,28$ de porcentaje de inhibición respectivamente.

Boza A y col,¹⁰ realizaron la pre formulación de crema y ungüento a partir de un extracto seco de la corteza de *mengifera indica L.* obteniendo el extracto por decocción y el secado por atomización, el polvo fino se caracterizó evaluando propiedades fisicoquímicas además de estudios de pre estabilidad en función del tiempo y del pH. Con el polvo se preparó un lote pequeño de crema y ungüento evaluándolos mediante procesos tecnológicos (pH, extensibilidad, propiedades organolépticas) y por la cuantificación del contenido químico de polifenoles totales. Obteniéndose que la crema contiene una cantidad adecuada de polifenoles totales, adecuada para ser usada como antioxidante tópico o con fines antiinflamatorios.

Goyti,¹¹ realizó un estudio químico y farmacológico de un extracto activo de *buddleja globosa hope, buddlejaceae* "matico" y diseño de la metodología analítica donde utilizó la estandarización química que permita la cuantificación de metabolitos activos por el método de folin ciocalteu utilizando Acido gálico como estándar donde obtiene una lectura de ETMAT otoño de $12,55 \pm 0,00$, ETMAT verano de $17,19 \pm 0,57$, y EMG de $14,48 \pm 0,00$ donde refiere que este método de cuantificación solo entrega la concentración de fenoles totales hidrosolubles sin valorar particularmente a aquellos metabolitos activos de interés farmacológico.

cápsula ovoide, de 6-8 mm de largo, de color marrón, glandular - pubérulas. Filamentos de 0,8-1,4 mm, estilo arqueado, 1,6-2,8 mm, glabro o diminutamente glandular - pubérulas proximalmente cápsula ovoide, de 6-8 mm de largo, de color marrón, glandular – pubérulas.¹³

c) Composición química

Se ha podido identificar los siguientes metabolitos como: flavonoides, taninos, quinonas de manera abundante y seguidamente triterpenos, esteroides y azúcares reductores.⁹

2.3. Flavonoides

Los flavonoides se forman biogenéticamente a través de la ruta del Shikimato y del acetato malonato, siendo la chalcona el flavonoide inicialmente formado. Existe una base común que explicaría los efectos farmacológicos de los flavonoides, considerándose la actividad antioxidante como la más probable para jugar este papel.¹⁴

2.4. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un grupo considerable de compuestos que pueden definirse, de una forma concisa y desde el punto de vista químico como compuestos orgánicos presentes en la naturaleza que poseen, al menos, un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilo unidos a él (esos grupos funcionales pueden ser sustituidos por ésteres, metil-éster, glicósidos, etc.), aunque una definición más precisa se basa en su origen metabólico como aquellas sustancias derivadas del metabolismo de la ruta del shikímico y de los fenilpropanoide.¹⁴

2.5. Proceso de atomización

En la industria la obtención de productos en polvo a partir de materiales líquidos se lleva a cabo por medio de un proceso de secado por atomización. El proceso de secado por atomización es capaz de transformar una disolución, una emulsión, una suspensión o una dispersión líquida en un producto totalmente seco y estable. Inicialmente, el líquido se introduce en el equipo por medio de una bomba y se atomiza, a continuación se elimina el disolvente por medio de una corriente de aire caliente, y como paso final los equipos utilizados en la industria presentan compartimentos de deposición de estas partículas para que al final sean recogidos en un vaso o recipiente cerrado. Los bajos tiempos de residencia que se emplean y el efecto refrigerador debido a la evaporación, posibilita trabajar eficazmente con productos sensibles a la temperatura. Las

Díaz y col, ¹² realizaron un estudio sobre la estabilidad sobre el acetato de hidrocortisona en formulaciones en forma de crema al 1% donde se sometieron a condiciones degradativas: medio ácido (HCl 1 M), medio alcalino (NaOH 0,1M) y condiciones oxidantes (H₂O₂ 3%) por periodos variables de tiempo y temperatura. Los productos de degradación se detectaron mediante técnicas de HPLC (CLAR). Los resultados obtenidos permiten valorar la estabilidad del HCAC y su crema al 1%. Se propone un mecanismo de degradación de este principio activo en sus formulaciones.

2.2. *Calceolaria rupestris* Molau “romero”

a) Clasificación científica de *Calceolaria rupestris* Molau “romero”

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub clase	:	Asteridae
Orden	:	Scrophulariales
Familia	:	Scrophulariaceae
Género	:	<i>Calceolaria</i>
Especie	:	<i>Calceolaria rupestris</i> Molau.
Nombre vulgar:	:	“romero”

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* (Anexo 1)

b) Descripción botánica de *Calceolaria rupestris* Molau “romero”

Arbusto erecto o ascendente 0,25 – 1,5 m de alto, muy ramificado, partes con inflorescencia distal y pubérulas de deriva o corto hisurte, con pelos glandulares, fasciculada en los laterales con brotes cortos, hojas estrechamente elípticas en línea 10-25 x 2-4 mm, aguda y más o menos mucronate en el ápice, atenuadas en la base, superficie superior verde grisáceo oscuro liso suave (pero con el nervio central impresionado), superficie inferior blanco, la nervadura central prominente venación; márgenes enteros, revoluto; pecíolos 1-3 mm glandular. Inflorescencia compuesta de 2-5 paris cimias de 1-4 flores sobre pedúnculos 0,4-1,3 cm de largo; brácteas presentes en cima; pedicelos 0,5-1,6 cm; sépalos amarillo verde, ovadas, agudas o subagudas, 3,8-6,4 x 1,2-3,6 mm en la antesis externamente glandular, internamente glabros. Corola de tipo dos, de color amarillo brillante, sin mancha; labio superior subglobosos, 2-4 mm x 3-4mm; labio en forma de U cuando se ve en vista lateral, 13-20 x 7-10 mm, el saco ascendente. Tipo de estambres once; buff anteras, 3-4.8 mm, las tecas bifurcarse o deflexos ligeramente; filamentos de 0,8 – 1,4 mm. Estilo arqueado 1,6-2,8 mm, glabro o diminutamente glandular - pubérulas proximalmente

ventajas frente a la liofilización son un rendimiento mayor, unos tiempos de procesamientos más cortos y su menor costo. El secado por atomización presenta tanto ventajas como inconvenientes:

Las principales ventajas del secado por atomización son:

- Control de los parámetros de calidad del producto así como especificaciones concretas.
- Los alimentos sensibles al calor, los productos biológicos, y los productos farmacéuticos se pueden secar a presión atmosférica y a bajas temperaturas. A veces, se emplea la atmósfera inerte.
- El secado por atomización permite la producción de grandes cantidades en la operación continua y con un equipo relativamente simple.
- El producto entra en contacto con las superficies del equipo en condiciones anhidras, simplificando así los problemas de la corrosión y de selección de materiales costoso en la construcción del equipo.
- Produce partículas relativamente uniformes, esféricas y con casi la misma proporción de compuestos que en la alimentación líquida.
- Puesto que la temperatura de funcionamiento del gas puede extenderse de 150 a 600 °C, la eficacia es comparable a la de otros tipos de secadores directos.¹⁵

Las desventajas del secado por atomización son:

- Deficiente si se requiere un producto a granel de alta densidad.
- Una unidad diseñada para la atomización fina puede no poder producir un producto grueso, y viceversa.
- Para una capacidad dada, se necesita generalmente una evaporación mayor que con otros tipos de secadores.
- Hay una alta inversión inicial comparada a otros tipos de secadores continuos.¹⁵

2.6. Estudios de formulación de formas farmacéuticas semisólidas

Los sistemas semisólidos satisfacen una exigencia de las preparaciones de aplicación tópica, ya que, en general, poseen buena adherencia, lo que hace que permanezcan sobre la superficie de aplicación por un tiempo razonable hasta que se elimine por lavado.³

2.6.1 Clasificación

Todos los preparados de consistencia semisólida están, de hecho, englobados en la definición genérica de “pomadas”, pero a menudo se utilizan otras denominaciones más específicas, relacionadas con sus características fisicoquímicas y su consistencia más o menos blanda. Así, en la Farmacopea Europea se distinguen varias categorías de pomada.³

a) Pomadas (propriadamente dichas); constan de un excipiente de una sola fase en el que se pueden dispersar sólidos o líquidos.

- Hidrófobas (lipófilas).
- Absorbentes de agua.
- Hidrófilas.³

b) Cremas; son formas farmacéuticas multifásicas constituidas por dos fases, una lipofílica y otra acuosa se clasifican en dos grandes grupos:

- *Hidrófobas(Emulsiones w/o)*. La fase continua o externa es la fase lipófila debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo W/O.
- *Hidrófilas (Emulsiones o/w)*. La fase externa es de naturaleza acuosa debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo O/W, tales como jabones sódicos o trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados y polisorbatos, a veces combinados en proporciones convenientes con tensoactivos tipo W/O.³

c) Geles; estas preparaciones están formadas por líquidos gelificados con ayuda de agentes apropiados.

- *Hidrófobos (oleogeles)*. Están constituidos por excipientes como la parafina líquida adicionada de polietileno, aceites grasos gelificados con sílice coloidal o por jabones de aluminio o zinc.
- *Hidrófilos (hidrogeles)*. Se elaboran con excipientes hidrófilos como el agua, el glicerol y los propilenglicoles, gelificados con sustancias como goma de tragacanto, almidón, derivados de la celulosa, polímeros carboxivinílicos, silicatos de magnesio y aluminio.³

d) Pastas; contienen elevadas proporciones de sólidos finamente dispersos en el excipiente por lo que, generalmente, su consistencia es bastante elevada y de bajo flujo, contienen polvos insolubles como óxido de zinc, almidón, caolín, talco (silicato de magnesio con trazas de aluminio). Son pomadas duras que contienen hasta un 50 % de polvo.³

2.6.2 Formulación farmacéutica de productos fitoterapéuticos

Los conocimientos y las técnicas de fabricación de medicamentos, preparados a partir de sustancias activas obtenidas por vía sintética, son aplicables en un todo a los productos naturales puros. Los productos fitoterapéuticos, debido a su naturaleza, merecen consideraciones y cuidados adicionales. La formulación de extractos y tinturas en formas farmacéuticas no puede ser considerada como problema únicamente de la tecnología farmacéutica. En la formulación de productos fitoterapéuticos deben ser consideradas no solamente la solubilidad y la estabilidad de los principios activos, sino también las características de los componentes secundarios del extracto, como, por ejemplo, la higroscopicidad en las formas farmacéuticas sólidas o la baja solubilidad en las formas farmacéuticas líquidas. Prácticamente todas las formas farmacéuticas pueden ser preparadas a partir de extractos. En la selección de la forma farmacéutica de un producto fitoterapéutico, los aspectos principales que deben tenerse en cuenta son los siguientes:

- La forma debe ser aceptable para el paciente.
- La fórmula debe ser química y físicamente estable.
- El producto debe ser correctamente envasado.
- El producto debe estar exento de contaminación microbiana.
- El producto debe ser capaz de proporcionar una dosis correcta de la droga.
- El producto debe ser terapéuticamente eficaz.
- El proceso debe ser económico para la fabricación en gran escala.
- El producto debe tener una estabilidad adecuada.

La fabricación de formas farmacéuticas de productos fitoterapéuticos debe obedecer a las Buenas Prácticas de Fabricación. El fabricante debe elaborar los productos fitoterapéuticos garantizando que estos estén bajo la legislación vigente y debe asumir la responsabilidad por la calidad de cualquier producto por él elaborado.¹⁶

2.7. Estudios de Pre-formulación

Cualquier principio activo que se pretenda comercializar para su utilización en clínica debe pasar por una serie de etapas encaminadas a la obtención de un medicamento seguro y eficaz. Para obtener el medicamento es necesario mucho trabajo multidisciplinario hasta que se obtiene la forma farmacéutica más adecuada para ese principio activo. Todos esos aspectos y características están relacionados entre sí, por lo que los trabajos a realizar se deben coordinar y en

muchas ocasiones repetir varias veces hasta llegar a la formulación definitiva. Por todo ello no es de extrañar que los estudios de formulación de un medicamento puedan durar varios años. Por lo tanto, el trabajo que abarca el conocimiento de las características básicas, tanto biofarmacéuticas como fisicoquímicas que van a influir en la elección y desarrollo de la forma farmacéutica final del medicamento se conoce como estudios de pre-formulación.¹⁷

Se define como la investigación de las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de un principio activo sólo o cuando se combina con excipientes, con el objetivo de generar información útil para la formulación en el desarrollo de una forma de dosificación estable y biodisponible. Es decir ensayos realizados sobre un principio activo, concepción y desarrollo de una nueva preparación farmacéutica, primer paso en el desarrollo racional de una forma farmacéutica para un principio

Comprenderá los siguientes pasos:

- 1.- Características del principio activo
- 2.- Características de la forma de dosificación
- 3.- Ensayos de compatibilidad
- 4.- Ensayos de estabilidad
- 5.- Parámetros de formulación y directrices para la producción
- 6.- Datos Biofarmacéuticos y Farmacocinéticos
- 7.- Condiciones de conservación y acondicionamiento
- 8.- Salud y prevención de accidentes.¹⁰

2.8. Estabilidad

La estabilidad es la aptitud de un principio activo o de un producto para mantener sus propiedades originales dentro de las especificaciones relativas a su identidad, concentración o potencia, calidad, pureza y apariencia física.⁴

a) Estudios de estabilidad

Conjunto de pruebas y ensayos a que se somete un producto en condiciones preestablecidas y que permitirá establecer su periodo de eficacia.⁴

b) Estudios de estabilidad acelerados

Estudios diseñados para lograr el incremento de la velocidad de degradación química o física de un producto, mediante condiciones de almacenamiento extremas o exageradas en su envase original, con el propósito de monitorear las

reacciones de degradación y predecir el periodo de vida bajo condiciones normales de almacenamiento.⁴

c) Estudios de estabilidad a largo plazo

Son estudios diseñados de las características físicas, químicas y microbiológicas, bajo condiciones de almacenamiento controladas durante el periodo de vida útil propuestas del producto, en el envase que se propone circular en el mercado.⁴

2.9. Estudios de Pre-estabilidad

Estos estudios denominado también “estudios de predicción de la estabilidad”, se realizan primeramente con la materia prima o principio activo y en una segunda etapa con la forma terminada. Su objetivo fundamental es predecir el posible comportamiento del o los componentes de interés y son de vital importancia para el tecnólogo, pues le ayuda a definir los posibles pasos de la tecnología de elaboración de la forma terminada. Generalmente estos estudios se realizan durante el periodo de pre-formulación y tiene la ventaja que son estudios que se realizan en un corto tiempo y dan una abundante información.¹⁸

Durante estos estudios se deben estudiar los siguientes parámetros:

Cuantificación de los principios activos: Se debe tener establecido antes de comenzar el estudio. Como método de análisis utilizar la cromatografía de placa fina, empleándose un sistema de fase móvil de cloroformo acetona (6:1), como fase estacionaria placas de Silicagel G F₂₅₄ y como revelador solución de p-dimetilaminobenzaldehído.¹⁸

Influencia de la temperatura

Para conocer cómo influye este parámetro, se somete la muestra de interés a condiciones de temperatura elevada (entre 70 y 100 °C) durante un período de tiempo que puede oscilar entre los 7 y los 10 días.

Influencia de la humedad

Para la realización de esta experiencia se coloca la muestra en estudio en una cámara húmeda que posea un 100 % de humedad relativa, durante un tiempo que puede estar entre los 7 y 15 días. Antes de comenzar el estudio se debe pesar la muestra y al finalizar la misma se debe realizar nuevamente la pesada.²⁰

Influencia de la humedad y el calor

Conocido como estudio “OMS”, el mismo consiste en realizar la experiencia anterior, con la diferencia de que la cámara húmeda debe ser colocada en una estufa con temperatura entre los 60 y 70 °C durante 7 días. Al igual que el caso

anterior la muestra debe ser pesada antes y después de realizada la experiencia.

Influencia de la luz

Se coloca la muestra en un frasco transparente, cerrado herméticamente y se coloca a la luz solar durante 7 días.

Influencia del medio con y sin calor

En este estudio se realizan dos experiencias, con el objetivo de conocer cómo puede influir sobre el producto el pH del medio.

Influencia del pH

Para realizar esta experiencia la muestra debe ser colocada en condiciones extremas de pH. Para ello se toman cuatro tubos para ensayo con tapa de rosca y se coloca dentro de ellos la muestra de interés. Posteriormente a dos de ellos se le adicionan solución de ácido clorhídrico o sulfúrico 1 mol/L (pH < 2) y a los otros dos tubos se le adicionan solución de hidróxido de sodio 1 mol/L (pH > 10). Se colocan un tubo de cada uno de los medios en una estufa a 70 °C durante 72 horas y el otro tubo se deja a temperatura ambiente durante igual tiempo.

Influencia del medio oxidante y reductor

Se realiza la misma experiencia anterior con la diferencia de que se añade solución de peróxido de hidrogeno al 1 % (medio oxidante) y de tiosulfato de sodio al 1 % (medio reductor).

Una vez finalizada cada una de las experiencias anteriormente expuestas, se procede a realizar el análisis químico para conocer si hubo afectación o no sobre el principio activo de interés. Para ello se deben realizar las siguientes determinaciones:

Análisis de las características organolépticas: Nos permite conocer si hubo afectación física de la muestra.

Identificación de los principios activos y los productos de degradación: Se deben realizar dos o más métodos de identificación, tratándose que uno de ellos sea cromatográfico (generalmente se emplea la cromatografía de placa fina).¹⁸

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se ejecutó en la oficina farmacéutica de cadena de Boticas QF, en los laboratorios de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

03 lotes de 20 frascos de 50 g de crema, elaborado a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" del centro poblado de Anchac-Wasi (Huaraca) del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.2.2. Criterios de inclusión y exclusión

Se tomara en consideración las hojas de "romero", que estén en buen estado excluyendo las que estén dañadas o en mal estado.

3.2.3. Muestra

12 frascos de crema elaborada a base del extracto atomizado de 2,0 kg de hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero", recolectadas en el centro poblado de Anchac - Wasi (Huaraca) del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a una altura de 3 129 m.s.n.m.

3.2.4. Unidad de análisis

01 frasco de crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero".

3.2.5. Sistema de muestreo

Libre por conveniencia

3.3. Procedimiento para la recolección de datos

3.3.1. Recolección de la muestra

La muestra de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" se recolectó en estado de madurez en horas de la mañana y transportada en bolsas a los laboratorios de la Escuela de Farmacia. Para su lavado con hipoclorito de sodio y se secaron a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación, sombreado en tendeles de papel bond, removiendo el vegetal cada 24 horas para evitar su descomposición, por un periodo de cinco a ocho días según las directrices OMS.²

3.3.2. Obtención del extracto atomizado de las hojas de *calceolaria rupestris* Molau "romero".

Luego del secado de la planta se procedió al deshojado de las hojas para ser reducidas de tamaño utilizando el molino de cuchilla hasta obtener un pulverizado uniforme, obteniendo un molido de 965 g, luego se procedió a ser humectada en un recipiente de vidrio con tapa (proteger el recipiente de la luz) con 800 ml de alcohol de 70° durante 12 h. Transcurrido el tiempo de humectación se transfirió la muestra a un agitador mecánico (mezclador de sólidos modelo cilindro).¹⁶

Teniendo la muestra en el agitador mecánico (mezclador de sólidos modelo cilindro) se cubrió el orificio de salida con gasa y algodón, la muestra se cubrió con el solvente hasta que este quede 3 - 5 cm por encima de ella, se maceró durante 24 h, luego del cual se abrió la llave de salida del agitador mecánico (mezclador de sólidos modelo cilindro) con una agitación permanente por cinco días dejando salir el percolado a razón de 20 gotas por minuto (agregando continuamente el solvente y este de 3-5 cm de la muestra), y se recibió el percolado y se filtró.¹⁶

Finalmente se reunieron todos los líquidos extractivos y se secó por atomización utilizando el Atomizador Mini Spray Dryer B-290 y el producto obtenido se envasó en un recipiente herméticamente cerrado, pues el extracto atomizado es muy higroscópico.

3.3.3. Identificación de compuestos químicos del extracto atomizado

La identificación de los diferentes compuestos químicos (metabolitos secundarios) del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" fueron realizadas siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuéllar.¹⁹

3.3.4. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del atomizado

Una vez obtenido el extracto atomizado, se evaluaron los parámetros físico - químicos, que a continuación se señala.¹⁹

a) Determinación de las características organolépticas

Color: Se colocó la muestra en un tubo de ensayo hasta las tres cuartas partes y se obtuvo el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.

Olor: Se tomó una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo e introdujo en un extremo de la muestra del ensayo. Determinando si corresponde con las características del producto.

Los términos para describir los olores de la droga son: aromático, aliáceo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, a especia, etc.²⁰

Sabor: Se tomó una cantidad suficiente y se colocó en una luna reloj, luego hacer contacto con la lengua y determinar el tipo de sabor (dulce, amargo, ácido, salino, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etc).²⁰

Aspecto: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se observó y se determinó el aspecto de la muestra.²⁰

b) Determinación de la solubilidad

Para determinar la solubilidad de extracto seco se pesó un gramo de muestra y se vació en un tubo de ensayo, el cual se le adicionó 1 ml de disolvente (agua, alcohol o cloroformo), agitar y observar, en caso de no disolverse aumentar el disolvente a 10 ml, así sucesivamente para 30 ml, 100 ml, 1L y más de 10 L.¹⁹

c) Determinación de pH

La medición del pH se llevó a cabo mediante el pH-metro de mesa, para ello se preparó una solución reguladora de pH, para rango de 0-7. Una vez preparada la solución reguladora, se ajustó el equipo al rango en que se realizó la determinación. Posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra.²¹

d) Determinación del contenido de humedad

Se pesó 2 g. de la muestra de ensayo con desviación permisible de 5 mg y se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada, seguidamente se desecó a 105 °C durante tres horas. La cápsula se colocó en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante una hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.²¹

Cálculo:

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

Dónde:

Hg = Pérdida en peso por desecación (%)

M = Masa de la cápsula vacía (g)

M₁ = Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M₂ = Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

100 = Factor matemático.

e) Determinación del contenido de cenizas

Se pesó no menos de 2 g ni más de 3 g de la muestra de ensayo, con una desviación permisible de 5 mg en un crisol de porcelana o platino previamente tarado. Se calienta suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente incinere en una mufla a una temperatura de 700 a 750°C, si no se señala otra temperatura en la norma específica, durante dos horas. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de cinco mg por g para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.²¹

Cálculo:

$$C = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

Dónde:

C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada

M = masa del crisol vacío (g)

M₁ = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M₂ = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático.

3.3.5. Cuantificación de fenoles

El contenido de fenoles totales se determinó por el método colorimétrico de Singleton y Rossi.²² con algunas modificaciones.

Procedimiento:

- Se transfirió 1 ml del extracto acuoso atomizado obtenido de la muestra, en una fiola de 25 ml.
- Seguidamente se agregó 1 ml de reactivo folin-ciocalteu (grado analítico Merck).
- Se agitó y luego se dejó en reposo por 5 minutos.
- Seguidamente se adicionó 10 ml de carbonato de sodio al 7%, y aforó con agua destilada a 25 ml.
- Después de 90 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente se procedió a realizar la lectura a una longitud de onda de 550 nm.
- Para realizar la curva de calibración se utilizó soluciones estándar de ácido caféico a concentraciones entre 100 a 500 ug/ml, preparadas a las mismas condiciones antes mencionadas.
- Se preparó el blanco a las mismas condiciones que la muestra.²²

3.3.6. Formulación de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero"

Para la elaboración de la crema a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" se tomaron tres formulaciones de diferentes composiciones para evaluar sus características que estas presentan y la óptima incorporación del atomizado como principio activo, de las cuales se eligió la segunda formulación por presentar mejores características organolépticas y fisicoquímicas. A continuación se detallan las fórmulas utilizadas en el proceso de elaboración de la crema.²³

a) Fórmula 1

Principio activo y/o excipientes	Cantidad (%)
Extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero"	1,0
Propilparabeno	0,1
Vaselina solida	10,0
Monoestearato de glicerilo	12,0
Acido esteárico	8,0
Metilparabeno	0,2
Trietanolamina	1,0
Agua purificada csp	100,0

b) Fórmula 2

Principio activo y/o excipientes	Cantidad (%)
Extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> <i>Molau</i> "romero"	1,0
Alcohol Cetílico	15,0
Vaselina sólida	10,0
Propilparabeno	0,1
Metilparabeno	0,2
Lauril Sulfato de Sodio	1,0
Propilenglicol	5,0
Agua purificada csp	100,0

c) Fórmula 3

Principio activo y/o excipientes	Cantidad (%)
extracto acuoso atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> <i>Molau</i> "romero"	1,0
Propilparabeno	0,1
Vaselina sólida	5,0
Alcohol Cetílico	3,0
Metilparabeno	0,2
Lauril Sulfato de Sodio	1,0
Propilenglicol	5,0
Agua purificada csp	100,0

El procedimiento para la elaboración de la crema siguió los siguientes pasos:

1. Se pesó las materias primas que corresponden a la fase oleosa (Vaselina sólida, alcohol cetílico, lauril sulfato de sodio, propilenglicol) en un recipiente metálico.
2. Se pesó las materias primas que corresponden a la fase acuosa (Metilparabeno, propilparabeno, agua purificada) en otro recipiente metálico.
3. Se fundió las materias grasas, cuidando de no pasar de los 70°C.
4. Se disolvió las materias primas de la fase acuosa, empleando una placa calefactora, cuidando de no pasar de los 70°C.
5. Posteriormente se vacía el contenido de la fase acuosa sobre la fase oleosa, cuando ambas se encuentren en un rango de temperatura de 60° a 70°C.
6. Se homogenizó ambas fases e incorporó el extracto atomizado de *Calceolaria rupestris* Molau "romero".
7. Se agitó la emulsión hasta que esta alcanzó una temperatura de 40°C.

Se terminó su preparación empleando una paleta de madera.²³

3.3.7. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos de la crema

a) Determinación de las características organolépticas

Olor: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj se percibió el olor y determino el tipo de olor. Los términos para describir los olores de la crema fueron: aromáticos, aliáceo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, a especia, etc.²⁴

Color: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en un tubo de ensayo, este se colocó en un fondo blanco, se observó el color y determinó el tipo de color.²⁴

Aspecto: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se observó y se determinó el aspecto de la muestra.²⁴

b) Determinación de las características físicas

Determinación del índice de extensibilidad: Para realizar este ensayo se utilizaron dos placas de cristal (10 x10 cm.) entre las cuales se colocó una cantidad pesada del preparado (por ejemplo = 2 g), trabajar a una variación de temperatura de $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Se colocó la placa inferior de cristal sobre una hoja de papel milimetrado. Se recuadró la placa y se trazaron las diagonales, se colocó la muestra del preparado sobre el punto de intersección. Se pesó la placa superior y se situó sobre la inferior. Pasado un determinado tiempo (1 minuto), y por efecto de la presión, la preparación se extendido de forma aproximadamente circular. Se anotó los valores de los dos diámetros y se calculó el diámetro medio y a partir de éste, se calculó la superficie del círculo formado. Se repitió esta operación con sucesivos pesos de 50, 100, 200 y 500 g, colocados en el centro de la placa.

Se representó la extensibilidad en mm^2 ($\text{Área} = \pi(d/2)^2$) frente a los pesos empleados.²⁵

Determinación del Potencial de Hidrogeno pH: Para realizar la determinación de pH se utilizó para cada una de las muestras de crema a evaluar fueron las tiras reactivas de pH, marca MACHEREY-NAGEL con escala de 0 al 6 pH ácido, 7 pH neutro, y de 8 al 14 pH básico. Se midió el pH sumergiendo la tira reactiva en la muestra a evaluar, después de 2 minutos cuando el color de la tira haya cambiado, se comparó con el patrón de coloración impreso en la caja y se le asignó un valor de pH.²⁵

Determinación del peso promedio: Para realizar la determinación del peso promedio se utilizó una balanza analítica previamente calibrada; se colocó las muestras a evaluar en la balanza y se proceder a realizar las lecturas de los pesos en gramos, previamente pesar el envase vacío y limpio para descartar el peso del frasco que contiene la muestra.²⁵

3.3.8. Parámetros de pre-estabilidad

a) Influencia de la temperatura

Para conocer cómo influye este parámetro, sometimos la crema de interés acondicionados en un frasco transparente a estrés térmico es decir; condiciones de temperatura elevada (entre 30 - 50 °C) en una estufa durante un período de tiempo de 1,30 y 90 días. Pasado este tiempo se valoró la crema formulada por el método de Singleton y Rossi.²¹, pesando 1 g de la crema en estudio en un vaso de precipitado y agregamos 25 mL de metanol, filtramos y con el filtrado preparamos diluciones para llegar a las concentraciones deseadas, luego tomamos 1 ml del filtrado y se realizó la valoración para su cuantificación.²⁶

b) Influencia de la luz UV

Se colocó la crema en un frasco transparente, cerrado herméticamente y se sometió a estrés térmico, colocándola a la luz solar utilizando una lámpara UV en una cámara acondicionada con paredes internas negras durante tres días. Pasado este tiempo se valoró la crema formulada por el método de Singleton y Rossi.²¹, pesando 1 g de la crema en estudio en un vaso de precipitado y agregamos 25 mL de metanol, filtramos y con el filtrado preparamos diluciones para llegar a las concentraciones deseadas, luego tomamos 1 mL del filtrado y se realizó la valoración para su cuantificación.²⁶

3.3.9. Control de calidad microbiológico de la crema

Para la determinación de bacterias coliformes y *Escherichia coli* se usó la técnica de diluciones en tubo múltiple (número más probable ó NMP).²⁷

a) Determinación de *Escherichia coli*

La determinación de microorganismos coliformes totales por el método del número más probable (NMP), se fundamenta en la capacidad de este grupo microbiano de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas al incubarlos a 35°C ± 1°C durante 48 horas, utilizando un medio de cultivo que contenga sales biliares. Esta determinación consta de dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa.

En la fase presuntiva el medio de cultivo que se utiliza es el caldo Lauril Sulfato de Sodio el cual permite la recuperación de los microorganismos dañados que se encuentran presentes en la muestra y que sean capaces de utilizar a la lactosa como fuente de carbono. Durante la fase confirmativa se emplea como medio de cultivo caldo lactosado bilis verde brillante el cual es selectivo y solo permite el desarrollo de aquellos microorganismos capaces de tolerar tanto las sales biliares como el verde brillante.

La determinación del número más probable de microorganismos coliformes totales se realiza a partir de los tubos positivos de la prueba presuntiva y se fundamenta en la capacidad de las bacterias para fermentar la lactosa y producir gas cuando son incubados $44,5^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ por un periodo de 24 a 48 horas.²⁷

Prueba presuntiva

- Se agitó la muestra y transfirió volúmenes de acuerdo con el Anexo 16, a cada uno de los tubos con caldo lauril sulfato de sodio que se seleccionaron. Se agitó los tubos para homogenizar la muestra.
- Se incubó los tubos a $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Luego se examinó los tubos a las 24 horas y observó si hubo formación de gas (desplazamiento del medio en la campana de Durham); al no observar producción de gas, se incubó 24 horas más.²⁷

Prueba confirmativa de microorganismos coliformes totales

- Se transfirió de 2 a 3 asadas de cada tubo positivo obtenido durante la prueba presuntiva, en este caso no hubo tubos positivos pero se siguió el procedimiento para descartar la presencia de microorganismos en la formulación, a otro tubo que contiene caldo de bilis verde brillante (brila), con campana de Durham.
- Se agitó los tubos para su homogenización.
- Se incubó a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. durante 24 a 48 horas.
- Se registró como positivos aquellos tubos en donde se observó turbidez (crecimiento) y producción de gas después de un periodo de incubación de 24 a 48 horas.
- Al no observarse turbidez ni producción de gas después del periodo de incubación se decidió realizar el plaqueado en placas activadas de agar levine para un descarte más determinante de bacterias coliformes totales que puedan estar presentes en la formulación de la crema.

- Se Consultó con el anexo 18, de NMP para conocer el número más probable de organismos coliformes totales/100 ML.²⁷

b) Cálculos y expresión de resultados del control microbiológico de la crema

Se calculó la densidad microbiana con base en el número más probable de organismos coliformes señalado en el anexo 18, para estimar la población de bacterias coliformes totales de acuerdo con las diluciones empleadas.

Se expresó en NMP/g o mL para muestras sólidas y NMP/100 mL para muestras líquidas.²⁷

3.4. Tipo y diseño de investigación

3.4.1. Tipo de Investigación

Pre - experimental.²⁸

3.4.2. Diseño de Investigación

Diseño de pre prueba – post prueba con un solo grupo.

G O₁ X O₂

G: Grupos de sujetos (G₁, grupo₁; G₂ grupo₂; etc.)

X: Tratamiento, estímulo o condición experimental.

O: Medición experimental.²⁸

3.5. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos fueron procesados y analizados mediante el programa Microsoft Excel. Los datos cualitativos como las características organolépticas, se reportó en cuadros. Para los datos de pH, índice de extensibilidad, peso promedio y cuantificación de fenoles se calculó la media y el error estándar de la media. Los resultados de control microbiológico como unidades formadoras de colonias (UFC) se reportó en cuadros.

Se realizó la prueba de Student para los valores de pH, índice de extensibilidad, peso promedio y porcentaje de fenoles con un nivel de significancia estadística de 0,05 para comparar los valores al inicio y al final del estudio de la evaluación de la pre-estabilidad después de someterlos a estrés térmico.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Características fisicoquímicas del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.

Parámetros	Ensayos	Resultados
Organoléptico	color	marrón claro
	olor	aromático
	sabor	amargo
	aspecto	resinoso
Solubilidad	agua	poco soluble
	metanol	soluble
pH	agua	6,60
Humedad	perdida por desecación	6,65 %
Cenizas	cenizas totales	5,19%

Tabla 2. Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Catequinas	catequinas	++	mancha verde carmelita a luz UV
Lactonas y/o Cumarinas	baljet	++	coloración rojiza
Saponinas	espuma	++	formación de espuma
Flavonoides	shinoda	+++	amílca de color amarillo intenso
Fenoles y/o Taninos	cloruro férrico	+++	coloración verde (no son hidrosolubles)
Quinonas	borntreger	++	fase acuosa alcalina color roja
Triterpenos y/o Esteroides	liebermann-burchard	+	coloración verde oscura
Azúcares reductores	fehling	+++	precipitado rojo

Leyenda:

(-) : Ausente (+): Escasa (++) : Buena (+++) : Excelente

Tabla 3. Características organolépticas y fisicoquímicas de la crema (fórmula 1,2 y 3) elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.

Parámetro	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3
Color	Beige claro	Beige claro	Beige claro
Olor	Aromático	Aromático	Aromático
Aspecto	Homogéneo espeso	Homogéneo suave	Homogéneo líquido
Extensibilidad (mm ²)	4635,4	11524,2	20414,1
Peso (g)	50,07	49,92	50,23
pH	4,8	3,95	5,0
Temperatura (°C)	20,7	20,7	20,7

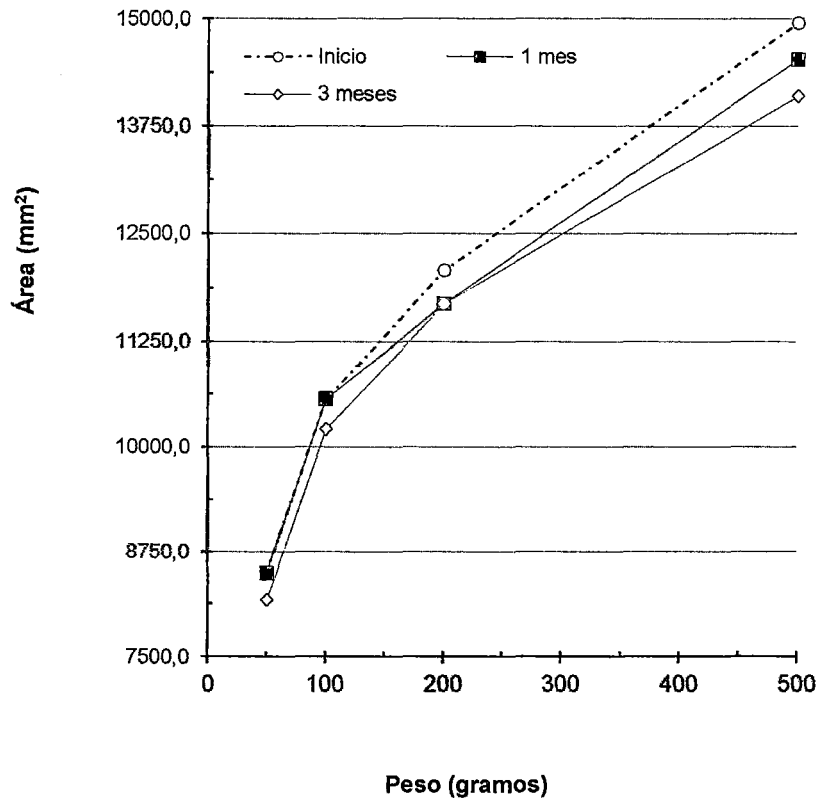
* Nivel de significancia de 0,05

Tabla 4. Variación de las características organolépticas y fisicoquímicas en la crema (fórmula 2) elaborada a base extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" en un estudio de pre-estabilidad. Ayacucho, 2015.

Parámetro	Inicio	1 Mes	3 Meses
Color	B/C	B/C	B/C
Olor	aromático	aromático	aromático
Aspecto	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
Extensibilidad (mm ²)	11524,2	11320,0	11042,7
Peso promedio (g)	49,92	49,91	49,89
pH	3,95	4,11	4,16
Contenido total de fenoles (ug/ml) a T° ambiente	5,88	5,39	5,14

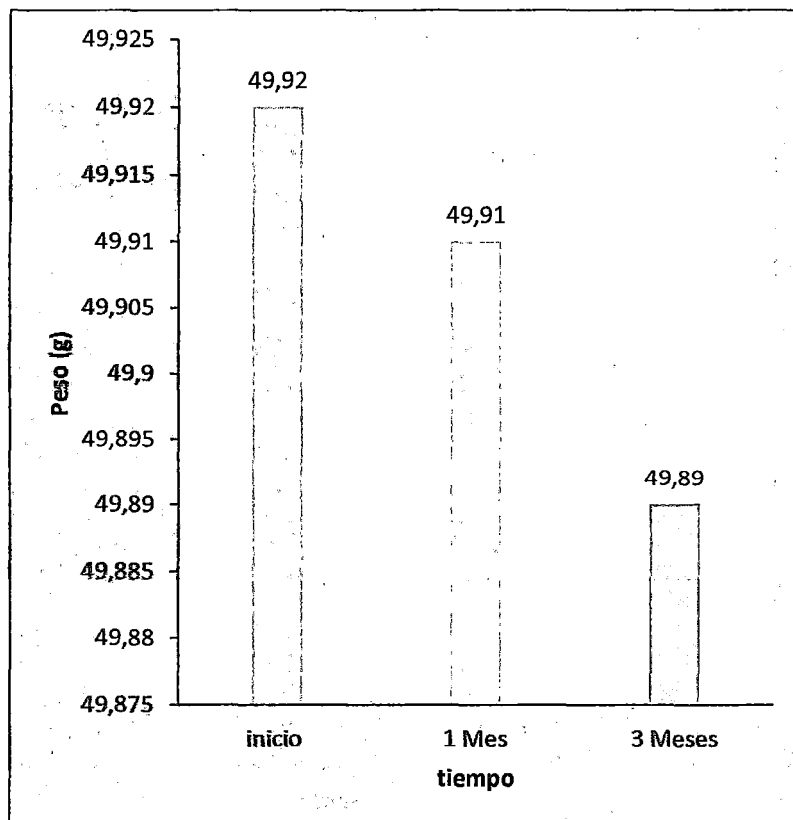
B/C: Beige claro

* Nivel de significancia de 0,05



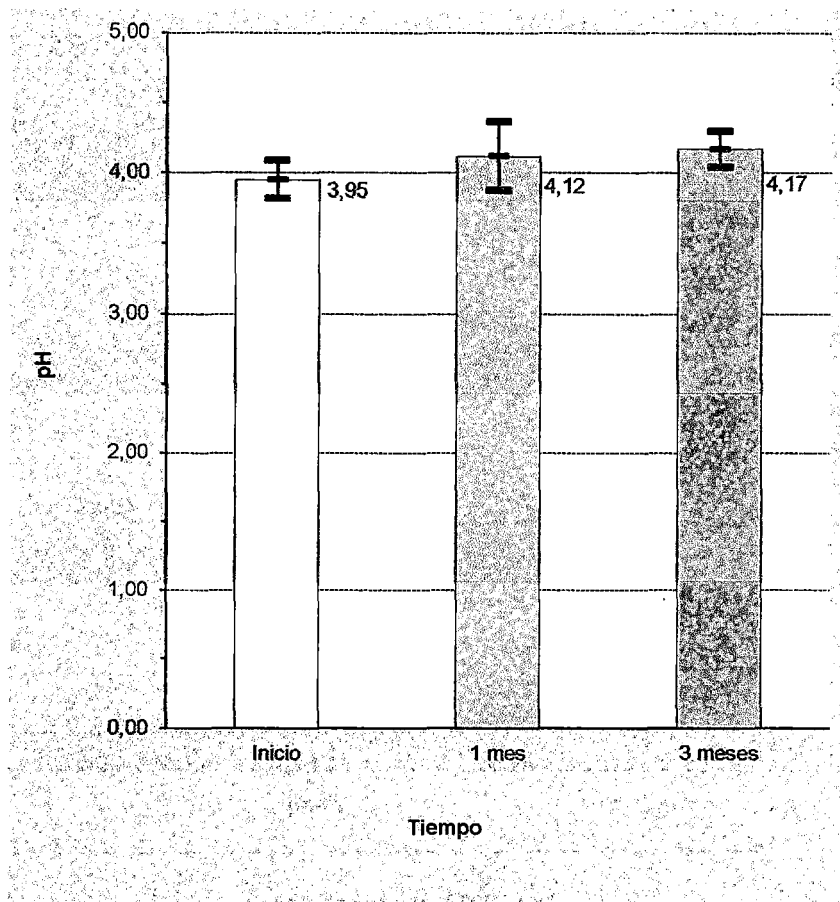
($p > 0,05$) no significativo

Figura 1. Variación del índice de extensibilidad evaluado a la crema (fórmula 2), con pesos de 50g, 100g, 200g, 500g, elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.



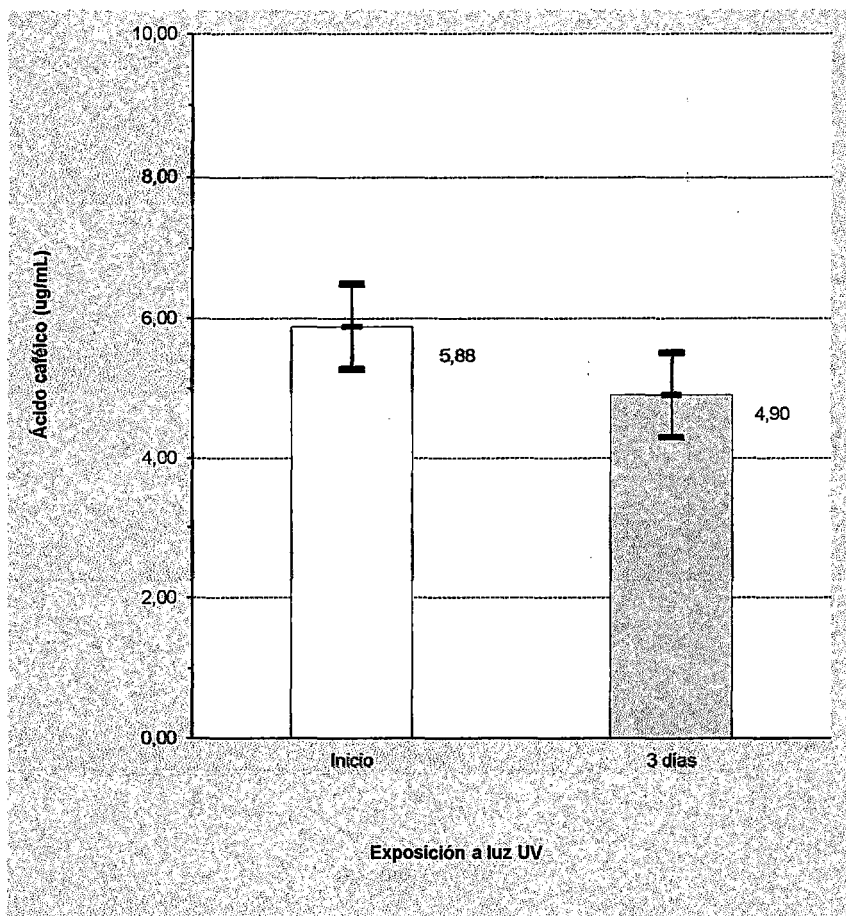
($p > 0,05$) no significativo

Figura 2. Variación del peso promedio evaluado a la crema (fórmula 2), elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.



($p > 0,05$) no significativo

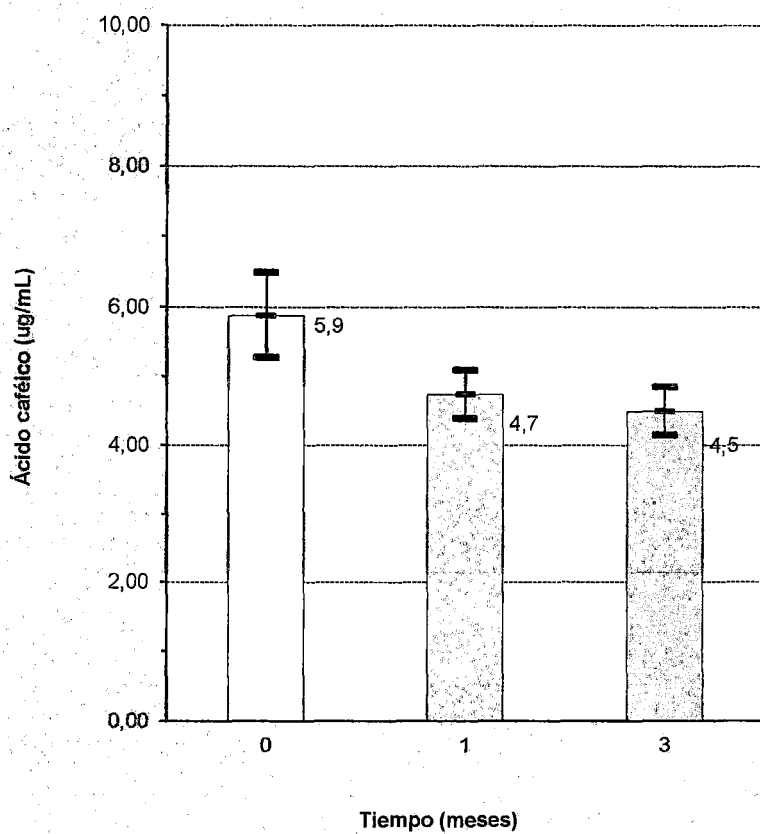
Figura 3. Variación del pH evaluado a la crema (fórmula 2), elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.



Luz UV

t = 1,20 no significativo

Figura 4. Cuantificación de ácido caféico en la crema (fórmula 2), elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" en un estudio de pre-estabilidad (luz UV). Ayacucho, 2015.



30°C

t= 0,49 no significativo

Figura 5. Cuantificación de ácido caféico en la crema (fórmula 2), elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" en un estudio de pre-estabilidad (tres meses a 30°C). Ayacucho, 2015.

Tabla 5. Control microbiológico de la crema (fórmula 2), elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero", en un estudio de pre-estabilidad. Ayacucho, 2015.

N° de tubos positivos	NMP/100 mL	95% de límite de confianza		Inicio	3 meses
		Inferior	Superior		
0	<1,1	0	3,0	Ausente	Ausente
1	1,1	0,05	6,3	Ausente	Ausente
2	2,6	0,3	9,6	Ausente	Ausente
3	4,6	0,8	14,7	Ausente	Ausente
4	8,0	1,7	26,4	Ausente	Ausente
5	>8,0	4,0	infinito	Ausente	Ausente



... ..

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se buscó realizar una formulación semisólida a base del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" a una concentración de 1%. Las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" fueron recolectadas en el centro poblado de Anchac-wasi (Huaraca) del distrito de Vinchos de la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

Para la obtención del extracto atomizado de romero se siguió el protocolo descrito por Nikolai S.¹⁶ mostrando que el extracto atomizado obtenido de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" es un producto de calidad que cumple con los parámetros mencionados.

En la Tabla 1, se presentan los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado con un color marrón claro, un olor aromático, un sabor amargo, aspecto resinoso, solubilidad en metanol y poco soluble en agua, pH de 6,60; humedad de 6,65 % y ceniza de 5,19 %. Según Kuklinski,²⁹ la solubilidad depende de la forma en que se encuentran: aglicones libres: son insolubles en agua, poco solubles en mezclas hidroalcohólicas y solubles en disolventes orgánicos ya sean polares o apolares. Heterósidos: son solubles en agua y en mezclas hidroalcohólica e insolubles en disolventes orgánicos apolares.

De las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" se obtuvo un extracto atomizado con un porcentaje de rendimiento de 9,37 %, es decir de 965 g de hojas secas se obtiene 90,58 g de extracto atomizado.

En la Tabla 2, se presentan los compuestos químicos identificados del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" siendo estos los azúcares reductores, catequinas, cumarinas, saponinas, flavonoides, fenoles, taninos, antocianidinas, quinonas, triterpenos y esteroides. Según Del Solar,⁶ se identificaron los siguientes metabolitos secundarios flavonoides, taninos, triterpenos y esteroides y quinonas en el género *Calceolaria*. De la Cruz,⁹ refiere

que los flavonoides (presentes en el género *Calceolaria*), como los ácidos fenólicos demuestran ser fuertes atrapadores de radicales libres y al mismo tiempo son capaces de inhibir la formación de estos últimos al enlazarse con iones de metales de transición.

Fauli,²⁴ menciona que un estudio de formulación debe ir precedido del conocimiento de determinadas propiedades físicas, químicas y biofarmacéuticas del principio activo y las influencias sobre los excipientes y en el proceso tecnológico determina las cualidades fundamentales del medicamento que son eficacia, seguridad y estabilidad.

En el presente estudio esta situación es crítica, debido a la higroscopicidad inherente del extracto atomizado y a la cantidad de extracto añadido. Las medidas utilizadas para evitar estas inconvenientes es adecuar un área de trabajo, controlando el porcentaje de humedad en el medio.

En la presente investigación se elaboró tres fórmulas de crema al 1 % a base de extracto acuoso atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Se varió la composición en excipientes y los resultados de su evaluación se muestran en la Tabla 3. Observamos que en las tres fórmulas vemos que el color y olor se mantienen uniformes; no presentan variación alguna en sus características. En cuanto al aspecto que estas presentan observamos que la fórmula 1, presenta un aspecto homogéneo pero espeso debido a la utilización de ácido esteárico que actúa como agente tensoactivo y le da volumen a la crema en combinación con la vaselina sólida (10 %) por lo que dicha fórmula por la evaluación del índice de extensibilidad fue descartada, la fórmula 3, presenta un aspecto homogéneo pero líquido debido a la utilización de poca cantidad de alcohol cetílico (3,0 %) que actúa como agente espesante y poca cantidad de vaselina sólida (5,0 %) a comparación de la formulación 2 donde se utilizó alcohol cetílico (15 %) y también por la evaluación del índice de extensibilidad se descartó esta formulación. Para seleccionar la mejor fórmula, se evaluó diferentes parámetros descritos en la Tabla 3 y la óptima incorporación del principio activo al 1 % en las tres fórmulas. Respecto a la extensibilidad estas se midieron de acuerdo al procedimiento indicado donde los resultados para las fórmulas 1, 2 y 3 fueron 4635,4 mm², 11524,2 mm², 20414,1 mm² respectivamente donde se observa que la fórmula 2 responde mejor a esta prueba. Respecto al peso promedio estas se midieron de acuerdo al procedimiento indicado donde los resultados para las fórmulas 1, 2 y 3 fueron

50,07 g, 49,92 g, 50,23 g respectivamente donde se observa que no hay variación en cuanto a pesos entre una fórmula a otra esta debido a la precisión en el envasado. Respecto al pH, la formulación 1, 2 y 3 presentan pH ácidos 4,8; 3,95 y 5,0 respectivamente donde se observa que la fórmula 2 presenta un pH de 3,95 que es ligeramente ácido; este pH responde mejor para otros productos cosméticos como champús o productos para el cuidado del cuero cabelludo que van desde 4,0-5,5; en este caso se recomienda ajustar el pH de esta formulación de acuerdo a la zona del cuerpo donde se va a utilizar.

Evaluated los parámetros establecidos y presentados en la Tabla 3, se eligió a la fórmula 2 por presentar mejores características organolépticas y fisicoquímicas. Por lo tanto, se procedió a realizar los ensayos de pre-estabilidad a dicha fórmula cuyos resultados se presentan a partir de la Tabla 4. Se realizó un estudio de pre estabilidad, sometiendo la fórmula 2 a diferentes condiciones de temperatura (30 °C y ambiente) y periodos de tiempo. Esta exposición se realizó en un tiempo inicial, un mes y tres meses luego del cual se procedió a evaluar sus características organolépticas y fisicoquímicas.

En la Tabla 4, se presentan los datos de la variación de las características organolépticas de la fórmula 2. Podemos observar, que en todos los casos se observa que tanto el color como el olor se mantienen; presentando un color beige claro y un olor aromático, un aspecto homogéneo suave al inicio y al final. Respecto a los valores de extensibilidad, no hubo variación estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre los valores al inicio (11524,2 mm²) y luego de tres meses se observa (11320 mm²), igualmente respecto al peso promedio se observa que al inicio (49,92 g) y después de tres meses (49,89 g) no presentan variación estadísticamente significativa ($p > 0,05$), respecto al pH se observa que al inicio presenta un pH de 3,95 y después de tres meses presenta un pH de 4,16 donde tampoco presenta variación estadísticamente significativa ($p > 0,05$), con respecto al contenido total de fenoles se observa una concentración inicial de 5,88 ug/ml y luego de tres meses se observa una concentración de 5,14 ug/ml con un $t=0,00$ donde no hubo variación significativa de ácido caféico al inicio y a los tres meses a temperatura ambiente.

En la Figura 1, se presenta los resultados de la variación del índice de extensibilidad de la crema (Fórmula 2) al inicio, a un mes y a los tres meses respectivamente donde observamos que no existe variación estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

En la Figura 2, se presenta los resultados de la variación del peso promedio de la crema (Fórmula 2) al inicio, a un mes y a los tres meses respectivamente donde observamos que no existe variación estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

En la Figura 3, se presenta los resultados de la variación del pH de la crema (Fórmula 2) al inicio, a un mes y a los tres meses respectivamente donde observamos que tampoco existe variación estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

En la Figura 4, se presenta los resultados de cuantificación de ácido caféico en la crema (fórmula 2) en un estudio de pre estabilidad (Luz UV) al inicio a y los tres días observamos que presenta un $t= 1,20$ que es menor que el $tt= 2,57$ donde nos indica que no existe variación significativa de la concentración de ácido caféico al inicio y a los tres días de evaluación.

En la Figura 5, se presenta los resultados de cuantificación de ácido caféico en la crema (fórmula 2) en un estudio de pre-estabilidad (tres meses a 30°C) donde observamos que presenta un $t= 0,49$ que es menor que el $tt= 2,57$ el cual nos indica que no existe variación significativa de la concentración de ácido caféico al inicio y a los tres meses de evaluación.

En la tabla 5, se presenta los resultados del control microbiológico de la crema (fórmula 2), donde se observa la ausencia de bacterias coliformes totales, debido a la presencia de preservantes en la composición de la formula 2 como es el metilparabeno y propilparabeno que son excelentes antibacterianos y principalmente responde bien como fungicidas.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto atomizado tiene un olor aromático, sabor amargo, es de color marrón claro y tiene un aspecto de polvo fino homogéneo. Es muy soluble en metanol, con pH es igual a 6,60; con una humedad de 6,65 %; cenizas 5,19 %; un rendimiento de 9,37% y con un porcentaje de fenoles de $79,84 \pm 0,06\%$.
2. Se determinó que la fórmula 2 fue la más adecuada para la formulación de la crema al 1% a base de extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de *calceolaria rupestris* Molau "romero", por las características que esta presentaba al incorporar el atomizado de manera óptima.
3. la crema al 1% elaborada a base de extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de *calceolaria rupestris* Molau "romero" elegida (fórmula 2), presentó un aspecto homogéneo suave, de color beige claro, aromático y un pH de 3.95. Del control de calidad microbiológico, la crema es conforme por presentar lecturas ausentes de bacterias coliformes y *Escherichia coli*.
4. Del estudio de pre-estabilidad, se sometió a la crema en estudio a Luz UV por tres días consecutivos, también se sometió a la crema en estudio a Temperatura de 30°C por 1, 30 y 90 días. Donde se observó que no hubo variación estadísticamente significativa en la evaluación de los parámetros organolépticos y fisicoquímicos.
5. Los resultados de cuantificación de fenoles totales presentes en la crema, en un estudio de pre-estabilidad (Luz UV) al inicio a y los tres días observamos que presenta un $t=1,20$ donde nos indica que no existe variación significativa de la concentración de ácido caféico al inicio y a los tres días de evaluación. Así como también del estudio de pre-estabilidad a 30°C por 1, 30 y 90 días, vemos que presenta un $t=0,49$ donde no hubo variación estadísticamente significativa en los porcentajes de ácido caféico frente a un $t=2,57$.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar el estudio de estabilidad a largo plazo de la crema a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau. "romero", para asegurar su calidad.
2. Realizar estudios clínicos y farmacológicos para evaluar la eficacia y seguridad de la crema a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau. "romero".

THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS

VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Haddad M, Fernández I**, Actividad Antifúngica de Cuatro Plantas Usadas en la Medicina Tradicional Peruana. Aislamiento de 3'- formil – 2',4',6' – Trihidroxidihidrochalcona, Principio Activo de *Psidium Acutangulum*[Revista en internet] 20112013 [acceso a internet 02 de diciembre del 2013] 77(3) disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v77n3/a05v77n3.pdf>
2. **Organización Mundial de la Salud**. Buenas Prácticas Agrícolas y de Recolección de Plantas Medicinales. Directrices de un Grupo Científico de la OMS. Ginebra: OMS; 2003.
3. **Vila jato**. Tecnología farmacéutica. Madrid: Editorial Síntesis; 2001.
4. **MINSA**. Directiva Sanitaria N° 031 – MINSA/DIGEMID V. 01. Directiva Sanitaria que reglamenta los estudios de estabilidad de medicamentos; 2009.
5. **Casanova G**. Actividad antioxidante y antiulcerosa del extracto acuoso liofilizado de *Calceolaria cuneiformis* RLP Subsp. Cuneiformes “ayapa zapatum” [tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2004.
6. **Del Solar C**. Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay” [tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2012.
7. **Romero M, et al**. Aspectos Botánicos, Fitoquímico, Antibacteriano y producción del Genero *Calceolaria* en la provincia de Huamanga-Ayacucho. 2009.
8. **Harty M, et al**. Flavonoids isolated from *Calceolaria chelidonioides* with antioxidant activity. TCDJPPS. [artículo en internet] 2010. [acceso agosto 2012];1(1): 4-7.
9. **De la Cruz**. Actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* “romero”, [tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2012.
10. **Boza A, et al**. pre formulación de crema y ungüento a partir de un extracto seco de la corteza de *mengifera indica* L. centro de química farmacéutica ciudad de la Habana Cuba información tecnológica vol. 11 N° 4 2000. Pp 125-131 [acceso abril 2015]; Disponible en: <https://books.google.com.pe/>
11. **Goyti L**. estudio químico y farmacológico de un extracto activo de *Buddleja globosa hope*, budlejaceae, “matico” y diseño de la metodología analítica. Departamento de química farmacológica y toxicológica, Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago de Chile. 2007. Revista en internet (acceso Agosto del 2015) disponible en: repositorio.uchile.cl/handle/2250/105643.
12. **Mesa J, et al**. Estabilidad del acetato de hidrocortisona en formulaciones en forma de crema al 1%. Revista Mexicana de ciencias farmacéuticas, vol. 38, num. 4, octubre-diciembre 2007, pp. 37-41. Asociación Farmacéutica Mexicana A.C. Distrito Federal Mexico. Revista en internet (acceso agosto del 2015) disponible en: redalyc.org/articulo.oa?id=57938406.
13. **Molau U**. Flora Neotrópica: Monograph N°47. Scrophulariaceae. Part 1 Calceolariaceae. The New York Botanical Garden. New York-USA; 1988.
14. **Villar Del Fresno M**. Farmacognosia general. Editorial Síntesis. España. 1999.
15. **Lozano Berna M**. Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de *Opuntia stricta* mediante secado por atomización [tesis de pregrado]. Universidad Politécnica de Cartagena. Colombia. 2009 [Acceso el 14 de mayo de 2015]...Disponible en.URL: <http://repositorio.bib.upct.es/dspace/bitstream/10317/954/1/pfc3022.pdf>.
16. **Sharapin, Nikolai**. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Vol. 78. CYTED, Convenio Andrés Bello; 2000.

17. **Vila JL.** Tecnología farmacéutica. Formas farmacéuticas. Vol. II. Madrid: Editorial Síntesis; 1997
18. **Rodríguez Chanfrau J.** Estabilidad y estandarización en control de calidad de medicamentos, CIDEM (Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos) la Habana Cuba. [artículo diapositivas en internet] 2010. [acceso mayo 2015] Dp. 51-61. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol37_3_03/far10303.htm
19. **Miranda M, Cuéllar A.** Manual de Prácticas de laboratorio. Farmacognosia y Productos naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de la Habana: Editorial Félix Varela; 2000.
20. **Paniagua J.** Formulación y evaluación de la actividad antiinflamatoria de la crema y gel elaborado a base de extracto atomizado de la corteza de la *Uncaria tomentosa* (Willd) DC. "uña de gato". [tesis]. Ayacucho. UNSCH. Ayacucho. 2008.
21. **Miranda M.** Métodos de análisis de drogas y extractos. La Habana – Cuba; Universidad de la Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos. 2002.
22. **Singleton V, Rossi A.** colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic [revista en internet] 1965. [acceso abril 2015] 16: 144-158. Disponible en: <http://ajevonline.org/content/16/3/144.abstract>
23. **Oficina Farmacéutica de Cadena de Boticas QF.** (2012) Procedimiento de Operación Estándar; Fabricación de Productos semisólidos no Estériles. Lima; 2015.
24. **Fauli Trillo C.** Tratado de Farmacia Galénica. Madrid: Ed. Luzán 5 S.A; 1993.
25. **Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria.** Guía de estabilidad de productos cosméticos. Primera Edición. [revista en internet]; Brasil;2004 [acceso abril 2015] disponible en : www.anvisa.gov.br/esp/cosmeticos/guia_serie_tematica_cosmeticos_espanhol.pdf.
26. **Heberlé G, et al.** Cosmetic formulations containing blueberry extracts (*vaccinium myrtillus*). Center for biological activity and health sciences univates - Rs Brazil, Joan vernikos aerospace pharmacy laboratory – microgravity centre – Pucrs – Brazil January, Volume 2, Issue I. Brazil-2012.
27. **Camacho A, et al.** Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos 2da edición, Facultad de Ingeniería Química. UNAM México; 2009.
28. **Hernández R. Fernández C. Baptista L.** Metodología de la Investigación Científica. 4º Ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2006.
29. **Kuklinski C.** Farmacognosia. 1ª ed. España: Omega; 2000.

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de identificación de la *Calceolaria rupestris* Molau "romero".
Ayacucho, 2015.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
"SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"

C E R T I F I C A

Que el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Vladimir, QUISPE GARAVIO, ha
solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación
de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SCROPHULARIALES
FAMILIA	:	SCROPHULARIACEAE
GENERO	:	Calceolaria
ESPECIE	:	<i>Calceolaria rupestris</i> Molau
N.V.	:	"romero"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para
los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 17 de Junio del 2015

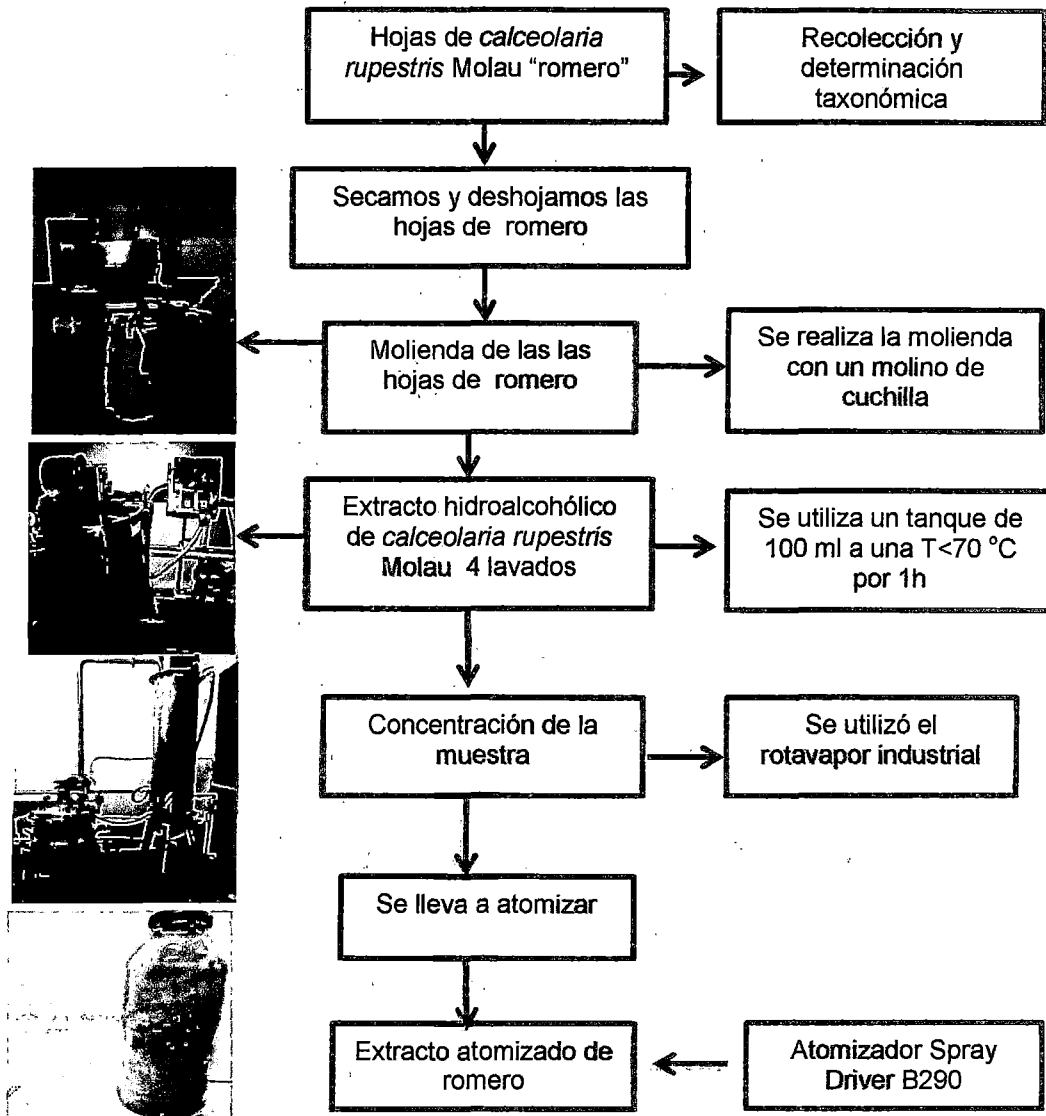
UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Dña. Laura Aucallana Medina
JEFE

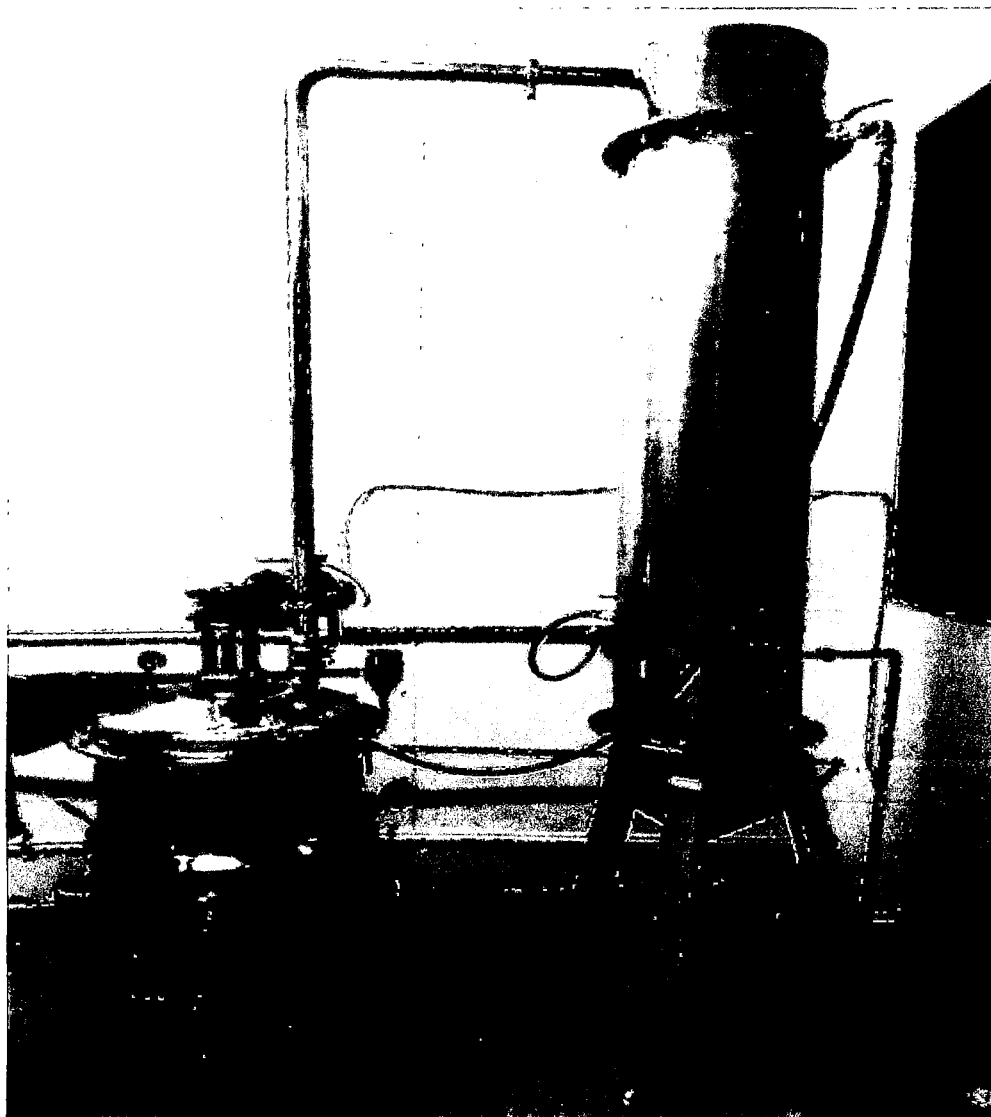


Anexo 2. Fotografía de las hojas y flores de la *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.

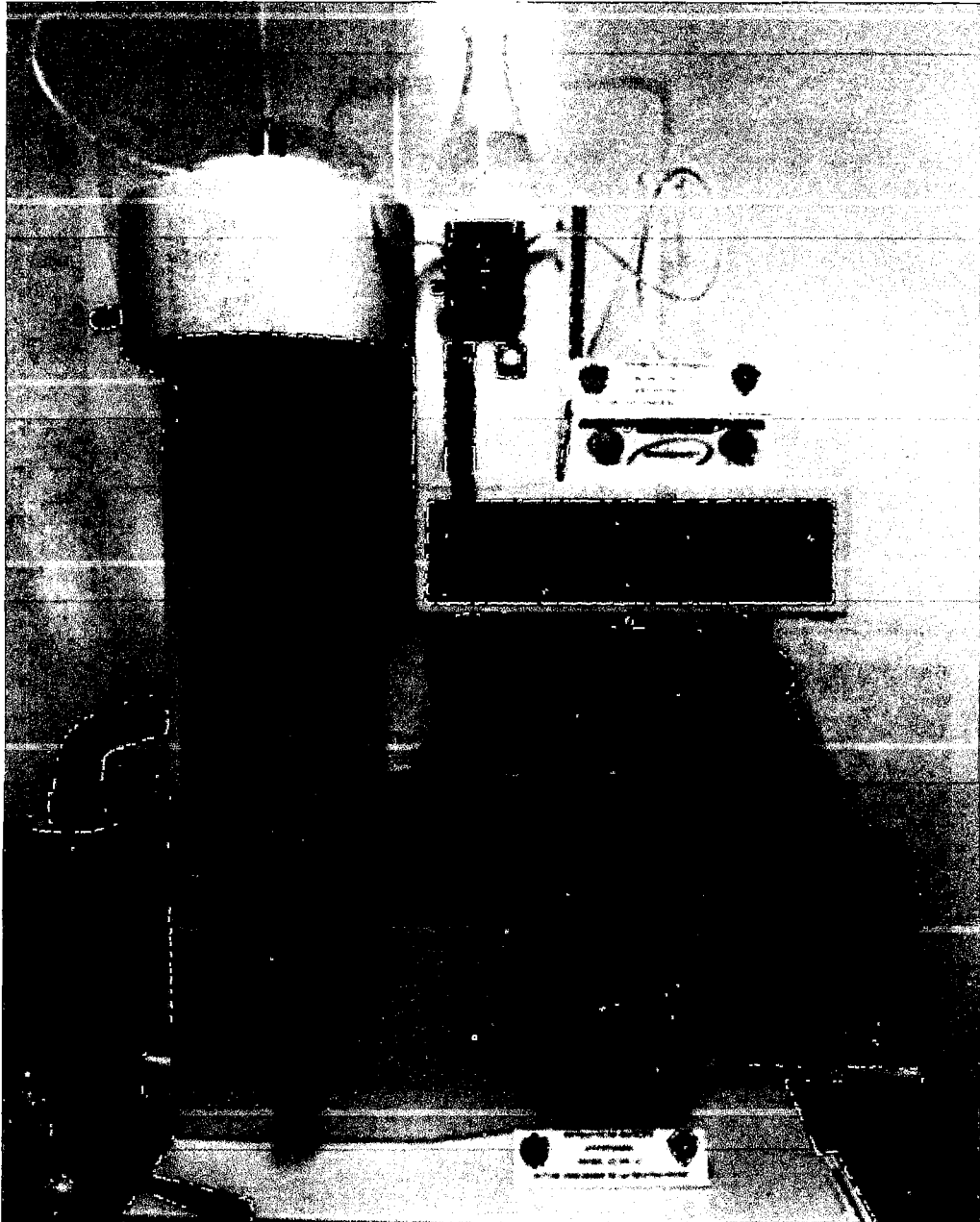
Anexo 3. Concentración del polvo de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Realizado en el laboratorio de control de calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, 2015.



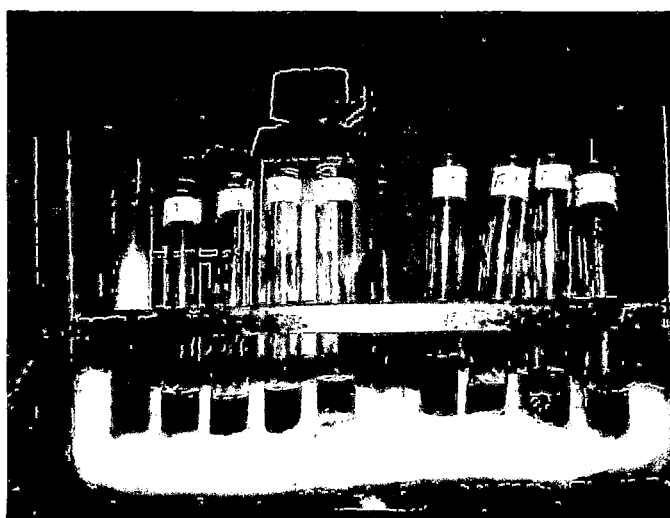
Anexo 4. Concentración del extracto hidroalcohólico de *Calceolaria rupestris* Molau "romero" realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, 2015.



Anexo 5. Fotografía del atomizador Spray Driver B290 del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos. Ayacucho, 2015

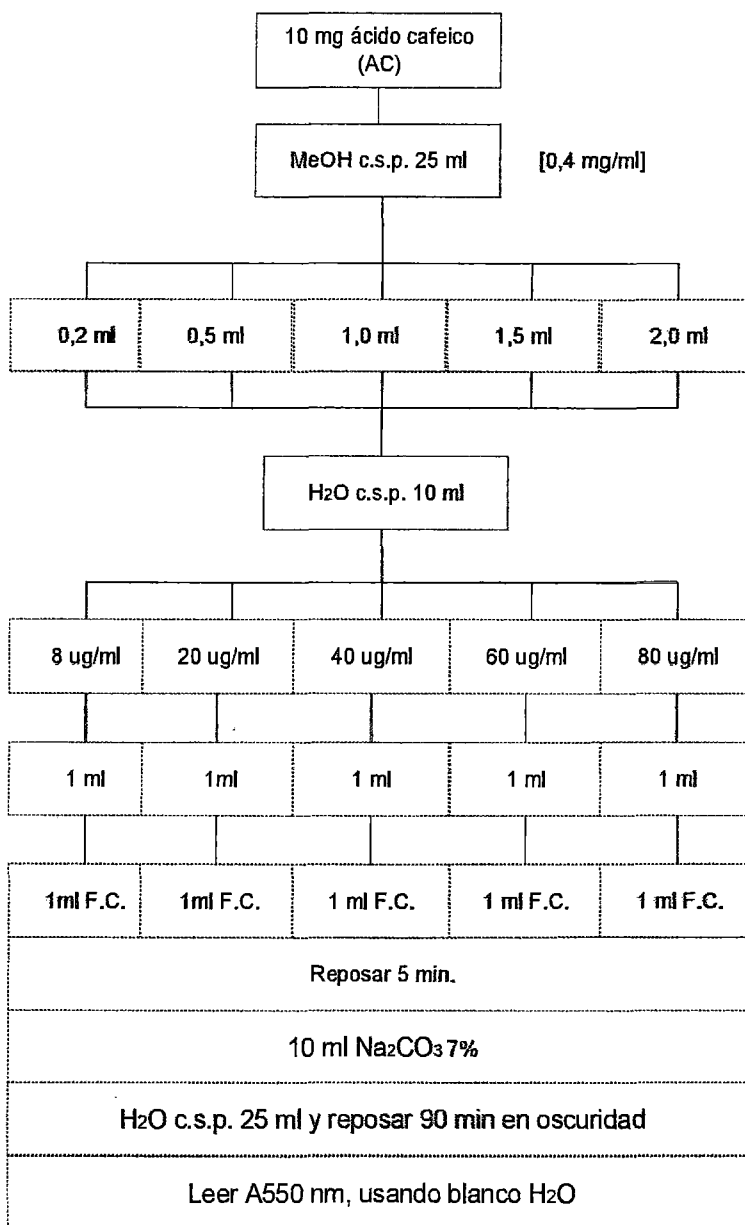


Anexo 6. Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso atomizado de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.



Anexo 7. Flujograma de cuantificación del estándar ácido cafeico a diferentes concentraciones. Ayacucho, 2015.

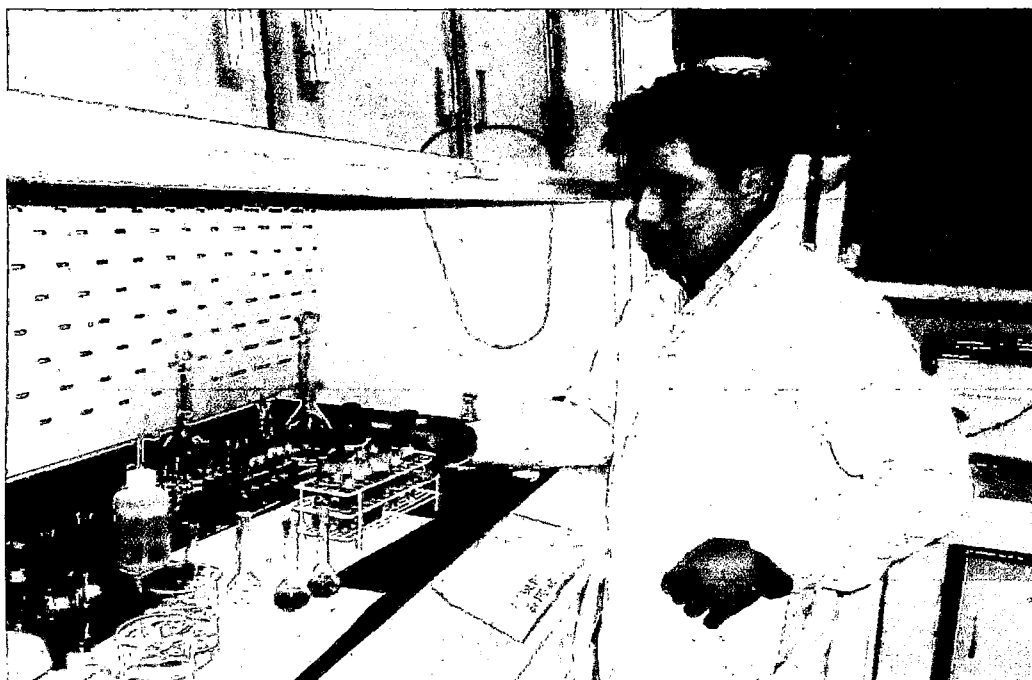
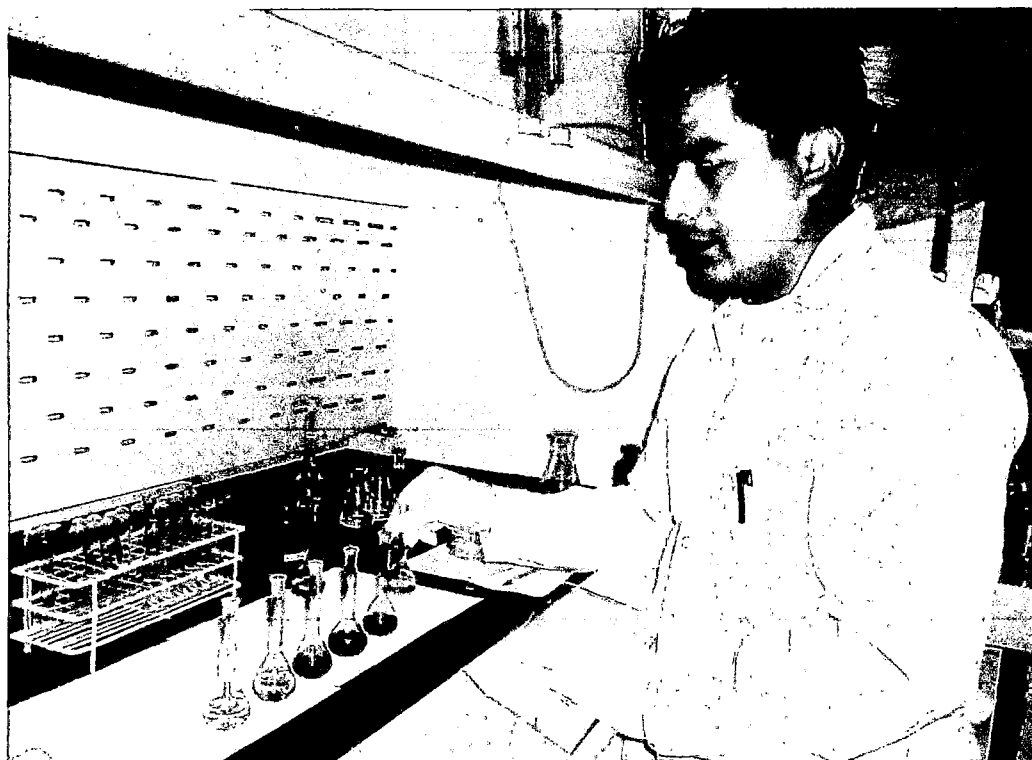
CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO CAFÉICO



F.C. Folin Ciocalteu 1:6 (F.C.:H₂O)

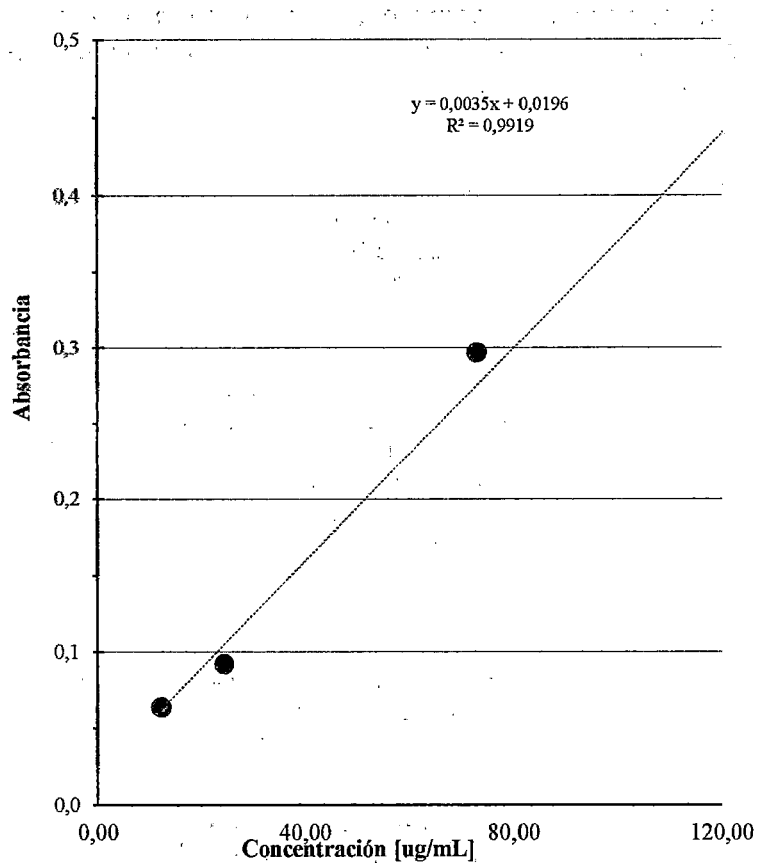
Para la muestra problema, preparar una solución 0,0004 mg/ml (0,01 g + H₂O c.s.p. 25 mL) y proseguir ídem a los estándares

Anexo 8. Preparación del estándar ácido caféico a diferentes concentraciones. Ayacucho, 2015.



Anexo 9. Lectura de la solución estándar de ácido caféico a diferentes concentraciones más la muestra del atomizado de "romero" en el espectrofotómetro UV vis. En el laboratorio de cinética y estabilidad de medicamentos de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, 2015.

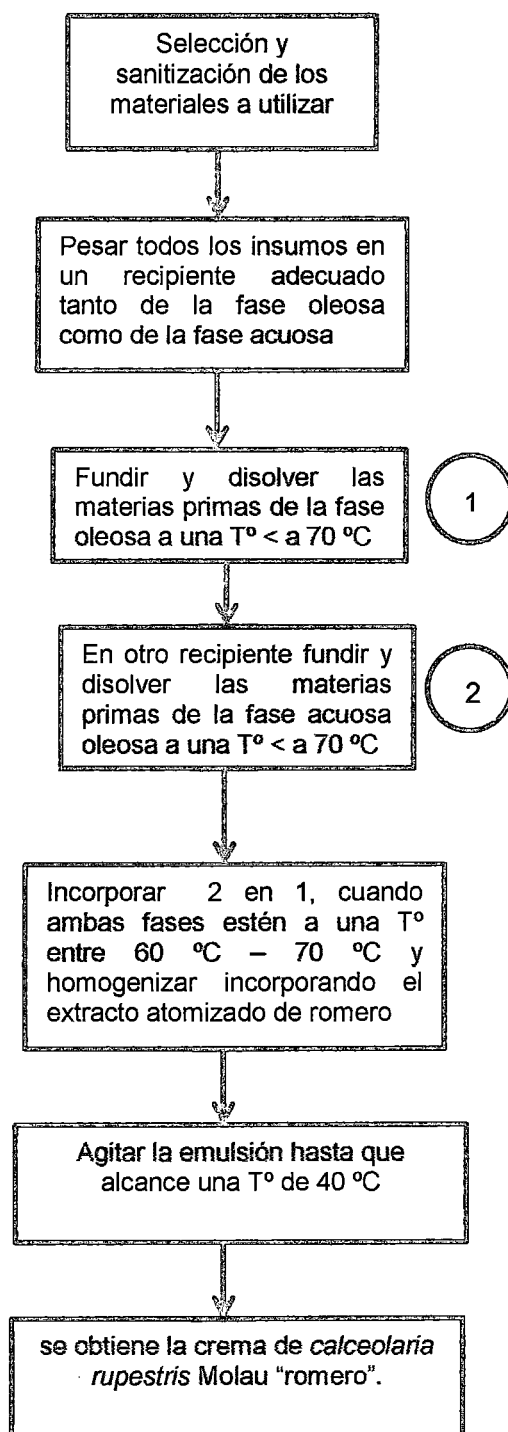




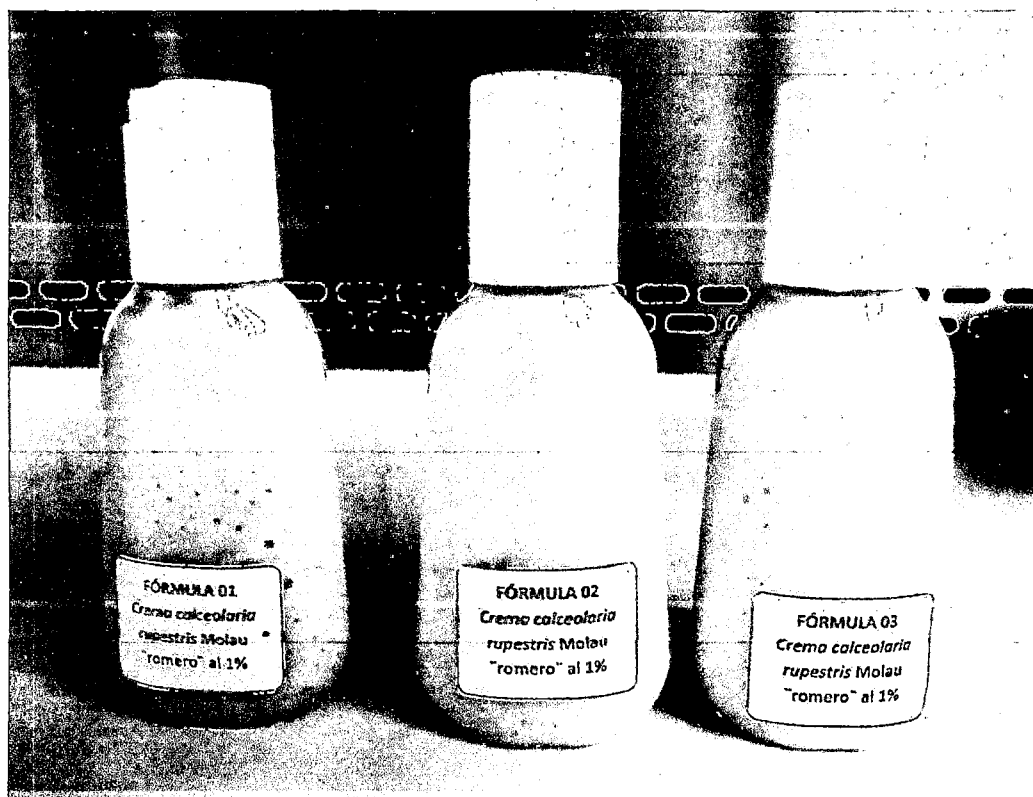
Factor de calibración = 244,89
 S = 39,13
 %C.V. = 15,98

Anexo 10. Curva de calibración para la cuantificación de ácido caféico en la crema (fórmula 2), elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.

Anexo 11. Formulación de la crema a base del extracto atomizado de *calceolaria rupestris* Molau "romero". Realizado en el laboratorio de control de calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, 2015.



Anexo 12. Producto terminado de las formulas 1, 2 y 3; realizado en el laboratorio de la Oficina Farmacéutica de la Cadena de Boticas QF Ayacucho, 2015.



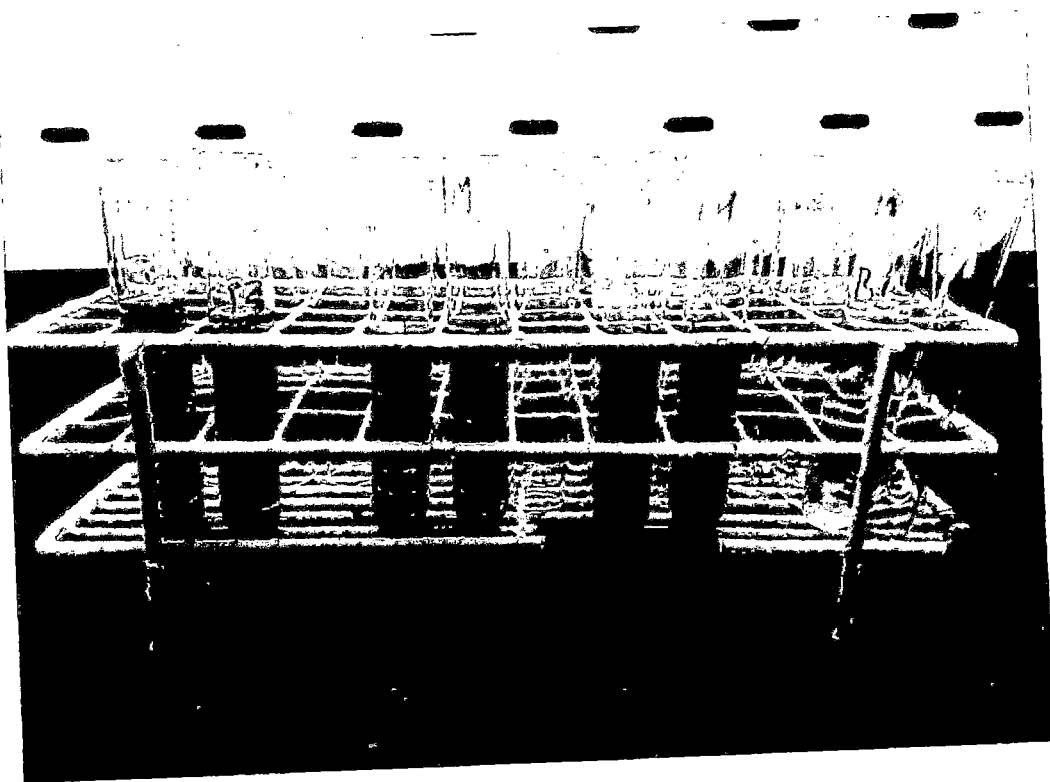
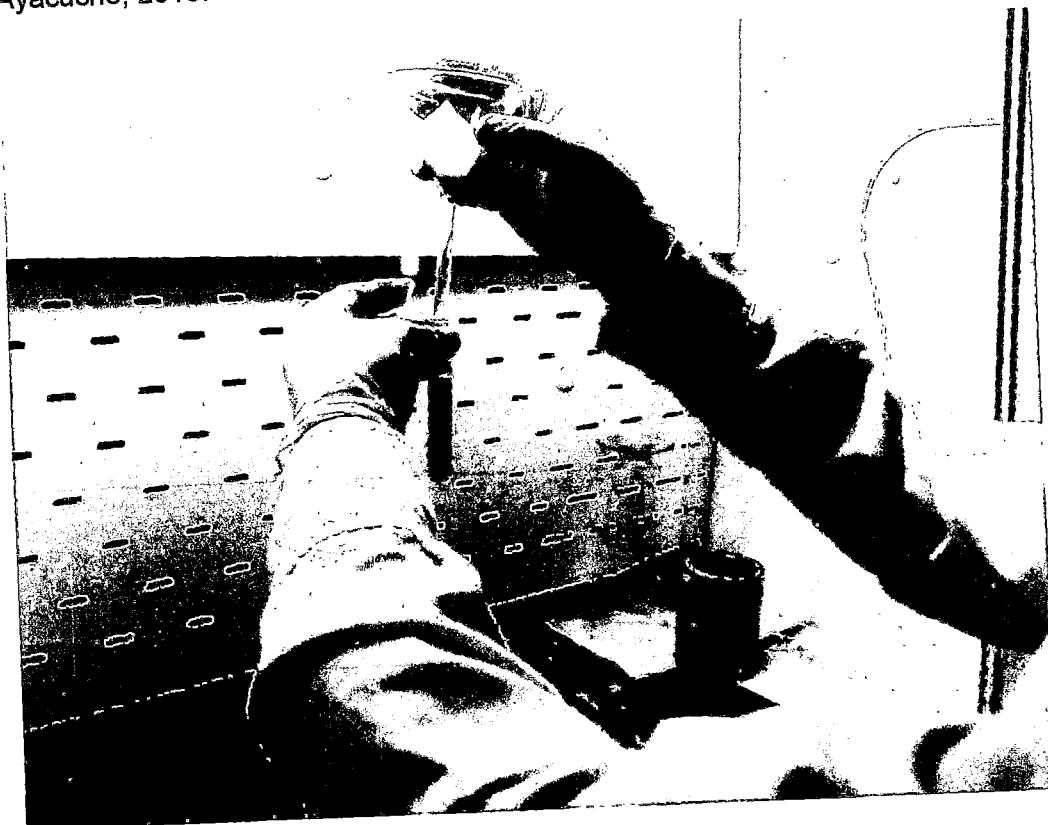
Anexo 13. Producto terminado elegido, formula 2 elaborada en el laboratorio de la Oficina Farmacéutica de la Cadena de Boticas QF. Ayacucho, 2015.



Anexo 14. Evaluación de pH a la crema (formula 2) elaborada en el laboratorio de la Oficina Farmacéutica de la Cadena de Boticas QF. Ayacucho, 2015.



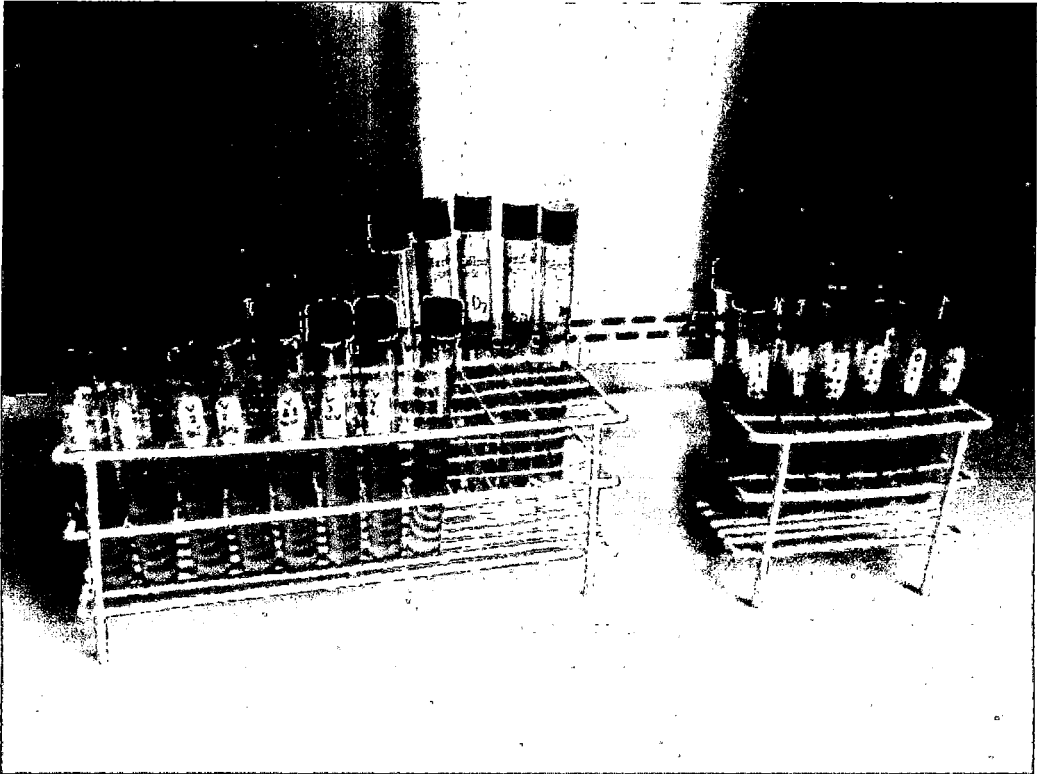
Anexo 15. Cuantificación de fenoles presentes en la crema (formula 2) elaborada en el laboratorio de la Oficina Farmacéutica de la Cadena de Boticas QF. Ayacucho, 2015.



Anexo 16. Preparación de inóculo con caldo lauril sulfato de sodio. Ayacucho, 2015.

INOCULO (mL)	CANTIDAD DE MEDIO POR TUBO (mL)	VOLUMEN DE MEDIO MAS INOCULO (mL)	CALDO LAURIL REQUERIDO g/L	CONCENTRACION
1	10 o mas	11 o mas	35,6	1X
10	10	20	71,2	2X
10	20	30	53,4	1.5X
20	10	30	106,8	3X
100	50	150	106,8	3X
100	35	135	137,1	3.5X
100	20	120	213,6	4X

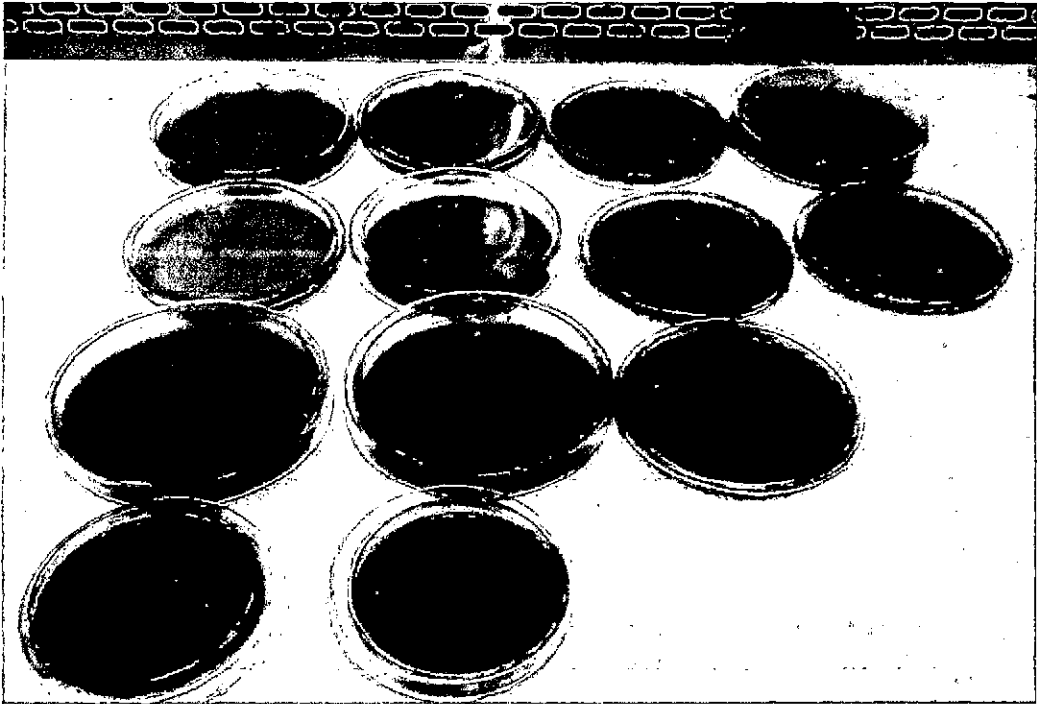
Anexo 17. Preparación de inoculo de la crema de "romero" con caldo lauril sulfato de sodio. Ayacucho, 2015.



Anexo 18. Índice del NMP con 95% de límite de confianza para varias combinaciones de resultados positivos y negativos. Ayacucho, 2015.

N° de tubos positivos	NMP/100 mL	95% de límite de confianza (Aprox.)	
		Inferior	Superior
0	<1,1	0	3,0
1	1,1	0,05	6,3
2	2,6	0,3	9,6
3	4,6	0,8	14,7
4	8,0	1,7	26,4
5	>8,0	4,0	infinito

Anexo 19. Lectura de resultados positivos y negativos por el método NMP de la crema de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.



Anexo 20. Matriz de consistencia

TITULO: Formulación de una crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau "romero". Ayacucho, 2015.

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEORICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
Formulación de una crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero", Ayacucho 2015.	¿Será posible la formulación de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> Molau "romero"?	<p>Objetivo General: Formular una crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de <i>calceolaria rupestris</i> "romero".</p> <p>Objetivo Especifico:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de <i>calceolaria rupestris</i> Molau "romero". 2. Determinar la fórmula más adecuada para la elaboración de la crema a base del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de <i>calceolaria rupestris</i> Molau "romero". 3. Evaluar los parámetros fisicoquímicos y control microbiológico de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de <i>calceolaria rupestris</i> Molau "romero". 4. Realizar un estudio de pre-estabilidad (Luz UV y 30 °C) a la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de <i>calceolaria rupestris</i> Molau "romero". 5. Cuantificar los fenoles totales presentes en la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>calceolaria rupestris</i> Molau "romero", antes y después de someterlos a estrés térmico. 	<p>Estudios de Pre-formulación Se define como la investigación de las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de un principio activo sólo o cuando se combina con excipientes, con el objetivo de generar información útil para la formulación en el desarrollo de una forma de dosificación estable y biodisponible</p> <p>Estudios de Pre-estabilidad Estos estudios denominados también "estudios de predicción de la estabilidad", se realizan primeramente con la materia prima o principio activo y en una segunda etapa con la forma terminada. Su objetivo fundamental es predecir el posible comportamiento del o los componentes de interés y son de vital importancia para el tecnólogo.</p>	Es posible la formulación de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> "romero".	<p>Variable Independiente: Crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> "romero".</p> <p>Indicadores: Tipo de excipiente Cantidad de excipiente Excipientes</p> <p>Variable Dependiente: Formulación de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> "romero".</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Características fisicoquímicas: Aspecto, color, olor, pH. • Control microbiológico: UFC (Unidades Formadoras de Colonia). • Cuantificación de fenoles totales antes y después de someterlos a estrés térmico. 	<p>Tipo de estudio: Aplicado</p> <p>Nivel de estudio: Experimental</p> <p>Diseño muestral: Población: 03 lotes de 20 frascos de 50g de crema, elaborado a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> "romero". Muestra: 12 Frascos de crema elaborada a base del extracto atomizado de 2,0 kg de hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> "romero".</p> <p>Unidad experimental: 01 frasco de crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> "romero".</p> <p>Metodología:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se obtiene el extracto atomizado de las hojas de <i>calceolaria rupestris</i> "romero". • Se evaluarán los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado (características organolépticas, identificación de compuestos químicos, pH y humedad). • Se determinara la fórmula adecuada para la elaboración de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> "romero". • Se evaluarán los parámetros fisicoquímicos y se realizara el control microbiológico de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> "romero". • Se realizara un estudio de pre-estabilidad a la crema (fórmula 2) sometiéndola a stress térmico (Luz UV y T° a 30 °C). • Se cuantificara los fenoles totales presentes en la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Calceolaria rupestris</i> "romero" antes y después de someterlos a stress térmico. <p>Análisis de datos: Los datos obtenidos serán procesados y analizados mediante el programa microsoft Excel. Se procederá a obtener la media, la mediana, la moda, la desviación estándar y la varianza. Se utilizará la prueba de t de student con una significancia estadística de p=0,05.</p>

BIBLIOTECA
 UNIVERSIDAD NACIONAL DE AYACUCHO

