



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DISEÑO DE UNA FORMA FARMACÉUTICA SEMISÓLIDA CON
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA A PARTIR DE BRÁCTEAS DE
BOUGAINVILLEA GLABRA CHOISY

LEON GUAMAN JOSSELYNE SAMANTHA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2020



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DISEÑO DE UNA FORMA FARMACÉUTICA SEMISÓLIDA CON
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA A PARTIR DE BRÁCTEAS DE
BOUGAINVILLEA GLABRA CHOISY

LEON GUAMAN JOSSELYNE SAMANTHA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2020



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

DISEÑO DE UNA FORMA FARMACÉUTICA SEMISÓLIDA CON ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA A PARTIR DE BRÁCTEAS DE *BOUGAINVILLEA GLABRA*
CHOISY

LEON GUAMAN JOSSELYNE SAMANTHA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

JARAMILLO JARAMILLO GLADYS CARMITA

MACHALA, 09 DE DICIEMBRE DE 2020

MACHALA
09 de diciembre de 2020

Josselyne León: Diseño de una forma farmacéutica semisólida con actividad antimicrobiana a partir de las brácteas de Bougainvillea glabra

por Josselyne León

Fecha de entrega: 11-nov-2020 04:39p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1443261808

Nombre del archivo: LEON_GUAMAN_JOSSELYNE_SAMANTHA_PT-200720.docx (935.69K)

Total de palabras: 3583

Total de caracteres: 20255

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, LEON GUAMAN JOSSELYNE SAMANTHA, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado Diseño de una forma farmacéutica semisólida con actividad antibacteriana a partir de brácteas de *Bougainvillea glabra* Choisy, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

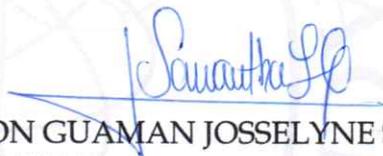
La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 09 de diciembre de 2020



LEON GUAMAN JOSSELYNE SAMANTHA
0704423086

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a Dios, a mis padres y a mis hermanos, porque en cada momento me brindaron todo su apoyo en mis estudios y en cada una de las metas que me he propuesto, ya que sin ellos nada de esto sería posible.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por cada una de sus bendiciones y estar a mi lado en todo momento, al igual que mis padres que siempre hicieron lo que estaba a su alcance para darme todo lo necesario en cada una de las etapas de mi vida, estaré eternamente agradecida con ellos.

También quiero agradecer a todos los docentes que contribuyeron en mi formación profesional y ética, especialmente a la Dra, Carmita Jaramillo porque desde que fue mi docente nunca me abandonó y me tuvo presente hasta el último día.

Finalmente quiero agradecer a mis hermanos que me apoyaron y estaban conmigo todo el tiempo, a mis amigas Ximena Apolo, Karol Romero y Lizbeth Bravo porque hemos estado juntas en las buenas y en las malas, a mis compañeros por todos los momentos y enseñanzas, también quiero agradecer a Ronny Velasco porque ha sido un apoyo fundamental a lo largo de todos estos años dándome palabras de aliento para nunca rendirme.

RESUMEN

La investigación bibliográfica fue el eje principal de este trabajo para diseñar una forma farmacéutica semisólida de uso tópico con actividad antibacteriana, a partir de un extracto etanólico de brácteas de *B. glabra* obtenido por percolación con etanol al 95%, aplicando el método de investigación deductivo y descriptivo. La técnica usada fue la recopilación, procesamiento y análisis de información referente al tema objeto de estudio, lo cual fue fundamental para el diseño de la formulación de una emulsión o/w, también se planteó un protocolo de procesamiento y envasado de la crema, se establecieron los ensayos y especificaciones de calidad y estabilidad del producto.

Palabras clave: actividad antibacteriana, bougainvillea, flavonoides, percolación, semisólidos.

ABSTRACT

Bibliographic research was the main axis of this work to design a semisolid pharmaceutical form of topical use with antibacterial activity, from an ethanolic extract of bracts of *B. glabra* obtained by percolation with 95% ethanol, applying the deductive and descriptive research method. The technique used was the collection, processing and analysis of information related to the subject matter of study, which was fundamental for the design of the formulation of an emulsion o/w, was also proposed a protocol of processing and packaging of the cream, the product quality and stability tests and specifications were established.

Keywords: antibacterial activity, bougainvillea, flavonoids, percolation, semisolids.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	IX
PROBLEMA.....	X
OBJETIVO GENERAL.....	X
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	X
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1. <i>Bougainvillea glabra</i>	1
1.2. Taxonomía.....	1
1.3. Características botánicas	2
1.4. Cultivo.....	2
1.5. Composición Química.....	2
1.6. Propiedades farmacognósticas	3
1.7. Toxicología.....	4
1.8. Flavonoides.	4
1.9. Cremas Hidrófilas (O/W).....	5
1.10. Control de Calidad de Cremas	6
2. FUNDAMENTO METODOLÓGICOS	7
2.1. Diseño general de la investigación.....	7
2.2. Técnicas e instrumentos	7
3. RESULTADOS.....	7
3.1. Selección del material vegetal.....	7
3.2. Control de calidad del material vegetal en fresco	8
3.3. Procesamiento del material vegetal.....	8
3.4. Preparación del extracto	9
3.5. Método de Identificación y Cuantificación de Flavonoides.....	9
3.6. Control de calidad del extracto.....	10
3.7. Actividad Antibacteriana in vitro del extracto	10

3.7.1. Elaboración de la suspensión bacteriana.	10
3.7.2. Método de difusión por disco.	11
3.8. Diseño de formulación	11
3.9. Protocolo de procesamiento y envasado de la crema	12
3.10. Ensayos y especificaciones de calidad de la crema.....	13
3.11. Estabilidad de la crema	13
3.12. Etiqueta.....	14
3.12.1. Envase primario.....	14
3.12.2. Envase secundario	14
4. CONCLUSIONES	15
5. RECOMENDACIONES	15
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características Taxonómicas.	1
Tabla 2. Actividad Farmacológica de extractos de <i>B. glabra</i>	3
Tabla 3. Componentes de cremas hidrófilas.	5
Tabla 4. Características organolépticas del extracto etanólico de brácteas de <i>B. glabra</i>	10
Tabla 5. Parámetros de calidad del extracto etanólico	10
Tabla 6. Formulación de crema hidrófila	12
Tabla 7. Procedimiento de elaboración de crema hidrófila.	12

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Brácteas de <i>B. glabra</i> Choisy. B) Púrpura, D) Naranja, E) Rosada, G) Magenta.	1
Fig. 2. Procesamiento de brácteas de <i>B. glabra</i>	8
Fig. 3. Método de percolación.....	9

INTRODUCCIÓN

Se considera que el 80% de la población ecuatoriana usa plantas medicinales o productos naturales como un sustituto de medicamentos de origen farmacéutico.¹ La información científica sobre propiedades farmacológicas de plantas medicinales de nuestro país es escasa, por lo tanto, representa un obstáculo para el desarrollo de fitofármacos.²

En Ecuador existen aproximadamente 18.198 especies vegetales, reportando en la provincia de El Oro 1.294 especies, incluida la *Bougainvillea glabra* Choisy (*B. glabra*) distribuida en varias zonas de la provincia.³ Es muy común su uso ornamental a pesar que se le atribuyen a esta planta la actividad analgésica, antipirética, antidiarreica, antiinflamatoria, hipoglucemiante, antioxidante y antimicrobiano.^{2,4,5,6,6,7,8,9,10,11} Esto puede deberse a que en su composición química están presentes alcaloides, carbohidratos, glucósidos cardiotónicos, taninos, flavonoides, saponinas, grasas,¹² terpenos, esteroides, ácidos grasos,^{13,14,15} betalaínas, pinitol, antroquinonas,^{12,16} flobataninos,¹⁵ azúcares reductores y proteínas.¹⁷

Entre las propiedades que se han evaluado a las brácteas de *B. glabra* se encuentra la antimicrobiana.^{5,7,8,9,10,11,16,17,18} Esta actividad se debe a que en su composición química está presente una gran cantidad de flavonoides.^{5,10,16} Al tener en su estructura grupos hidroxilos y un grado de lipofilidad que producen una inhibición enzimática y por lo tanto evita la síntesis de ciertos microorganismos.⁵

La alta producción de fármacos antimicrobianos de origen sintético y alto costo, establecen la necesidad de la implementación de fitofármacos que reúna todas las características de calidad, estabilidad, seguridad y eficacia.⁸ Por lo que se propone el diseño de una forma farmacéutica semisólida a partir de un extracto alcohólico de las brácteas de *B. glabra*, con base emulsionada o/w. Este tipo de emulsiones son usadas ampliamente porque se diluyen fácilmente con agua,¹⁹ lo que proporciona una mayor absorción de los flavonoides con actividad antibacteriana.⁵

PROBLEMA

En distintas zonas de Ecuador, y en la provincia de El Oro existe una gran variedad de especies de *B. glabra* que difieren en su color y lugar de cultivo, siendo esto determinante en la composición química y su actividad terapéutica. Considerando que ambos factores tributan a la calidad y eficacia en la elaboración de posibles fitofármacos, así como los limitados estudios químicos desarrollados en la provincia con brácteas de *B. glabra*, se plantea la necesidad de conocer la composición química y las actividades biológicas de la *B. glabra* cultivadas en El Oro y en particular la actividad antibacteriana, para su posible utilización con fines medicinales, aprovechando los componentes activos farmacológicos de recursos naturales como es el caso de la *B. glabra*, en el desarrollo de medicamentos.

OBJETIVO GENERAL

Diseñar una forma farmacéutica semisólida (crema) con propiedad antibacteriana a base de brácteas de *B. glabra*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar la actividad antimicrobiana de *B. glabra* a través de revisión bibliográfica.
- Establecer métodos y parámetros para evaluar la calidad de la materia vegetal en fresco.
- Definir el método para identificar y cuantificar el metabolito secundario responsable de la actividad antibacteriana.
- Proponer formulación de crema con actividad antibacteriana fundamentando su función y la cantidad de cada componente.
- Plantear protocolo de procesamiento y envasado de la crema.
- Establecer ensayos y especificaciones de calidad de la crema
- Presentar un plan de estudio de estabilidad de la crema, considerando el envase seleccionado y normativas oficiales.
- Mostrar un proyecto de etiqueta a través de la normativa oficial.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. *Bougainvillea glabra*

La *B. glabra* o también conocida como Veranera, es una planta trepadora que se utiliza de manera ornamental.²⁰ Su nombre se debe al descubridor francés Louis Antoine de Bougainville que la reportó en Brasil en 1778 y que posteriormente la distribuiría hacia Europa, por tal razón se conoce que esta planta es originaria de Latinoamérica.¹² Se han reconocido 18 especies de las cuales solo 4 son comercializadas en el mundo.⁴

Su uso también está relacionado con el tratamiento de enfermedades respiratorias como la tos ferina, asma, tos y bronquitis usando extractos específicamente de las flores y las brácteas.²¹



Fig. 1. Brácteas de *B. glabra* Choisy. B) Púrpura, D) Naranja, E) Rosada, G) Magenta.²²

1.2. Taxonomía

Tabla 1. Características Taxonómicas.

Nombre Científico	<i>Bougainvillea glabra</i>
Reino	Vegetal
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida

Subclase	Cariophyllidae
Orden	Caryophyllales
Familia	Nyctaginácea
Género	Bougainvillea

Fuente:²³

1.3. Características botánicas

Es un arbusto vigoroso de hojas ovadas y alternas, con la base estrecha y el ápice agudo, el haz es brillante y el envés pálido con pubescencia en la nervadura. Puede crecer aproximadamente 9 metros de altura y florece varias veces en el año especialmente cuando está expuesta directamente al sol.²¹ La parte de la planta más llamativa son sus brácteas que son hojas muy cercanas a la flor y se caracterizan por diferir de las demás hojas por su color.²⁴ Presentan diversos colores como fucsia, naranja, morado, blanco, rojo, amarillo y rosa, que suelen ser confundidos como flores. Las flores son pequeñas y generalmente de color amarillo y blanco.²¹

1.4. Cultivo

El cultivo se da por medio de estacas de *B. glabra* con un diámetro de 1.5 a 2.5 cm y una longitud de 10 a 30 cm teniendo en cuenta la presencia de nudos que se obtienen directamente del tallo de una planta sana, vigorosa y que haya crecido expuesta al sol, una vez colocadas correctamente sobre el suelo se formará un callo por donde se desarrollarán las raíces de la planta. Requiere de un riego constante evitando que se formen charcos de agua y fertilizante cada 15 días.²¹

1.5. Composición Química

De acuerdo a varios autores la evaluación química cualitativa realizado a extractos de *B. glabra* Choisy demuestra la presencia de alcaloides, carbohidratos, glucósidos cardiotónicos, taninos, flavonoides, saponinas, grasas,^{5,10,12,25,16} terpenos, esteroides, ácidos grasos,^{13,14,15} betalaínas,

pinitol,²⁵ antroquinonas,^{12,16} flobataninos,¹⁵ azúcares reductores y proteínas.¹⁷

1.6. Propiedades farmacognósticas

Tabla 2. Actividad Farmacológica de extractos de *B. glabra*.

PROPIEDAD	ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS	RESULTADOS
Analgésica	La actividad fue estudiada en ratas Wistar machos con extractos metanólicos de <i>B. glabra</i> administrados por vía oral. ⁴ Usaron el método de inmersión de cola de ratas Wistar hembras en ácido acético y tratada oralmente con extractos etanólicos de <i>B. x buttiana</i> . ⁶	Obtuvieron un 79,88% de analgesia en ratas Wistar macho estudiada en extractos metanólicos de <i>B. glabra</i> . ⁴ Los resultados para extractos etanólicos de <i>B. x buttiana</i> obtuvo un 95.65% de potencia analgésica. ⁴
Antipirética	El estudio fue realizado en ratas Wistar a las cuales se les inyectó levaduras para provocar fiebre y fueron tratadas oralmente con extractos metanólicos de <i>B. glabra</i> . ⁶	El extracto metanólico de <i>B. glabra</i> disminuyó considerablemente la fiebre de las ratas Wistar. ⁴
Antidiarreica	En el estudio el extracto de acetona de las hojas de <i>B. glabra</i> Choisy fue administrado en ratas Wistar hembras. ⁴	El resultado antidiarreico fue muy significativo en este estudio para el extracto con acetona. ⁴
Antiinflamatoria	Se determinó esta actividad con el tratamiento por vía oral de ratas Wistar macho con un extracto metanólico de las hojas de <i>B. glabra</i> . ⁴	Se obtuvo una propiedad antiinflamatoria favorable lo cual podría deberse a que el extracto metanólico de <i>B. glabra</i> inhibe la enzima cox y la inhibición de prostaglandinas. ⁶
Hipoglucemiante	El estudio consistió en administrar por vía oral varias dosis de extractos etanólicos de <i>B. spectabilis</i> en ratas Wistar con diabetes inducida. ⁶	El extracto en estudio resultó ser efectivo para disminuir los niveles de glucemia en sangre. ⁶

Antioxidante	La actividad se determinó con extractos metanólicos de las brácteas de <i>B. glabra</i> y también con las hojas frescas de <i>B. buttiana</i> pasadas por una extracción con acetona, etanol y agua destilada usando los métodos de DPPH, FRAP y la inhibición de la peroxidación lipídica. ⁴ La propiedad antioxidante también fue reportada usando el método DPPH con extractos etanólicos de las brácteas de <i>B. x buttiana</i> . ⁴	Todos los extractos presentaron actividad antioxidante, pero el autor establece que el porcentaje de esta propiedad va a depender del color de <i>Bougainvillea</i> , la parte de la planta estudiada y del disolvente usado en su extracción. ⁴
Antimicrobiano	El método de difusión por disco es el más usado por varios autores para determinar la actividad antimicrobiana en extractos de <i>B. glabra</i> y fue descrito por Bauer, Kirby, Sherris y Turck en 1966. ^{2,4,5,7,8,9,10,11,16,17,18}	En extractos de brácteas de <i>B. glabra</i> se ha demostrado una importante actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>S. aureus</i> , ⁹ <i>P. aeruginosa</i> , ⁸ <i>B. subtilis</i> , <i>M. luteus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. typhi</i> , <i>K. pneumonia</i> , <i>V. cholerae</i> , ^{7,9} <i>P. vulgaris</i> , ¹⁰ La mayoría de los estudios le atribuyen esta actividad a los flavonoides, específicamente a la catequina. ^{5,12,10,16}

1.7. Toxicología

En un estudio realizado con ratas Wistar se ha demostrado una toxicidad aguda en extractos acuosos y etanólicos de las brácteas de *B. glabra*, estableciendo una dosis letal 50 (DL50) de 1000 mg/kg. Sin embargo, otro estudio establece que las brácteas de *B. spectabilis* en extractos con acetona, metanol, cloroformo, agua, éter de petróleo demostraron oxidación de los eritrocitos y disminución de los niveles de hematocrito provocando anemia.⁴

1.8. Flavonoides.

Los flavonoides los encontramos en varias frutas y vegetales que consumimos a diario. Está dispuesta básicamente por dos anillos de benceno unidos por un compuesto heterocíclico de tres carbonos.²⁶ La catequina es el flavonoide aislado en la *B. glabra* y se clasifica

estructuralmente como un flavano, debido a que posee un grupo hidroxilo ubicado en la posición tres del heterociclo.⁵

1.9. Cremas Hidrófilas (O/W)

Las cremas son formas farmacéuticas semisólidas que se caracterizan por formar emulsiones. Están compuestas por una fase oleosa, otra fase acuosa y un sistema emulgente. Una crema Hidrófila es una buena alternativa para pieles con tendencia a resequeidad o normales, esto le da la particularidad de absorberse rápidamente en la piel.²⁸

Tabla 3. Componentes de cremas hidrófilas.

COMPONENTES		FUNCIÓN (%)
Principio Activo	Principio activo de origen natural o sintético	Componente con actividad farmacológica
Fase grasa	Alcohol estearílico	Ungüentos y cremas (1-20%), Lubricante para tabletas (1-3%)
	Alcohol cetílico	Emoliente (2-5%), Agente emulsificante (2-5%), Agente endurecedor (2-10%), Absorción de agua (5%).
	Cera blanca	Agente estabilizador, Agente endurecedor.
	Colesterol	Emoliente, Agente emulsificante (0,3-5%).
	Aceite mineral	Ungüento oftálmico (3-60%), Preparaciones óticas (0,5-3%), Emulsiones tópicas (1-32%), Lociones tópicas (1-20%), Ungüento tópico (0,1-95%).
Emulgente	Lauril sulfato de sodio	Emulsificante aniónico (0,5-2,5%), Detergente en champú medicinal (≈10%), Limpiador de piel en aplicaciones tópicas (1%), Lubricante de tabletas (1-2%),
	Polisorbato 20 (tween 20)	Emulsificante y solubilizantes (1-15%), Humectantes (0,1-3%).

	Polisorbato 60 (tween 60)	Emulsificante y solubilizantes (1-15%), Humectantes (0,1-3%).
	Polisorbato 80 (tween 80)	Emulsificante y solubilizantes (1-15%), Humectantes (0,1-3%).
	Metilcelulosa	Laxante a granel (5-30%), Cremas, geles y ungüentos (1-5%), Agente emulsificante (1-5%), Preparaciones oftálmicas (0,5-1%), Suspensiones (1-2%), Desintegrante en tabletas (2-10%).
	Lanolina	Agente emulsificante, Base para ungüento.
	Tragacanto	Agente suspensor, Agente para incrementar viscosidad.
Fase Acuosa	Polialcoholes	Humectante para (\approx 15%), Preservativo en soluciones y semisólidos (15-30%), Solvente o cosolvente tópicos (5-80%),
	Alcoholes	Preservativo antimicrobiano (>10%), Desinfectante (60-90%), Solvente en recubrimiento de película (variable).
	Agua purificada	Vehículo.
Otros Componentes	Preservantes	Minimiza el deterioro provocado por microorganismos.
	Quelante	Capacidad de capturar de iones
	Fragancias	Brindar olor agradable

Fuente: ^{29,30}

1.10. Control de Calidad de Cremas

El producto terminado tiene que pasar por una evaluación de sus propiedades físico-químicas (olor, color, aspecto), extensibilidad, pH, consistencia, viscosidad, penetrometría, determinación del tipo de emulsión, peso de la fórmula terminada descontando el envase y control microbiológico. Se propone la metodología y especificaciones establecidas en la Farmacopea USP 37/NF 32.³⁰

2. FUNDAMENTO METODOLÓGICOS

2.1. Diseño general de la investigación

La metodología del presente trabajo de investigación se caracteriza por ser deductivo y descriptivo mediante una revisión bibliográfica de artículos científicos sobre las propiedades taxonómicas, botánicas, farmacológicas y específicamente la actividad antimicrobiana que se le atribuye a la *B. glabra*, su toxicidad, composición química y el método para identificar y cuantificar los metabolitos responsables de esa actividad, componentes de cremas, método de elaboración del producto, control de calidad, ensayo de estabilidad y selección del envase y etiqueta a utilizar de acuerdo con la normativa pertinente.

2.2. Técnicas e instrumentos

La búsqueda de información fue el eje principal de este trabajo de investigación para seleccionar el material vegetal con actividad antibacteriana, los componentes y el procedimiento de elaboración de cremas, las especificaciones de calidad, los ensayos de estabilidad, la elección del envase y el diseño de la etiqueta de acuerdo con las normativas pertinentes.

La técnica utilizada fue la recopilación, procesamiento y análisis de información referente al tema objetivo de estudio, siendo estos artículos científicos publicados en bases de datos como Scielo, Science Direct, ResearchGate, Revista Nova, Repositorio de la UTMACH, así también libros como Vila Jato y farmacopeas que permitieron fundamentar y dar solución al problema planteado en el desarrollo del reactivo práctico.

3. RESULTADOS

3.1. Selección del material vegetal

De acuerdo con estudios realizados por varios autores. La *B. glabra* es una planta que posee una importante actividad antibacteriana,^{5,7,8,9,10,11,16,17,18} actividad farmacológica que ha sido estudiada usando diferentes métodos para la obtención de los extractos de sus brácteas, siendo el método de percolación el más significativo para obtener una mayor cantidad de flavonoides

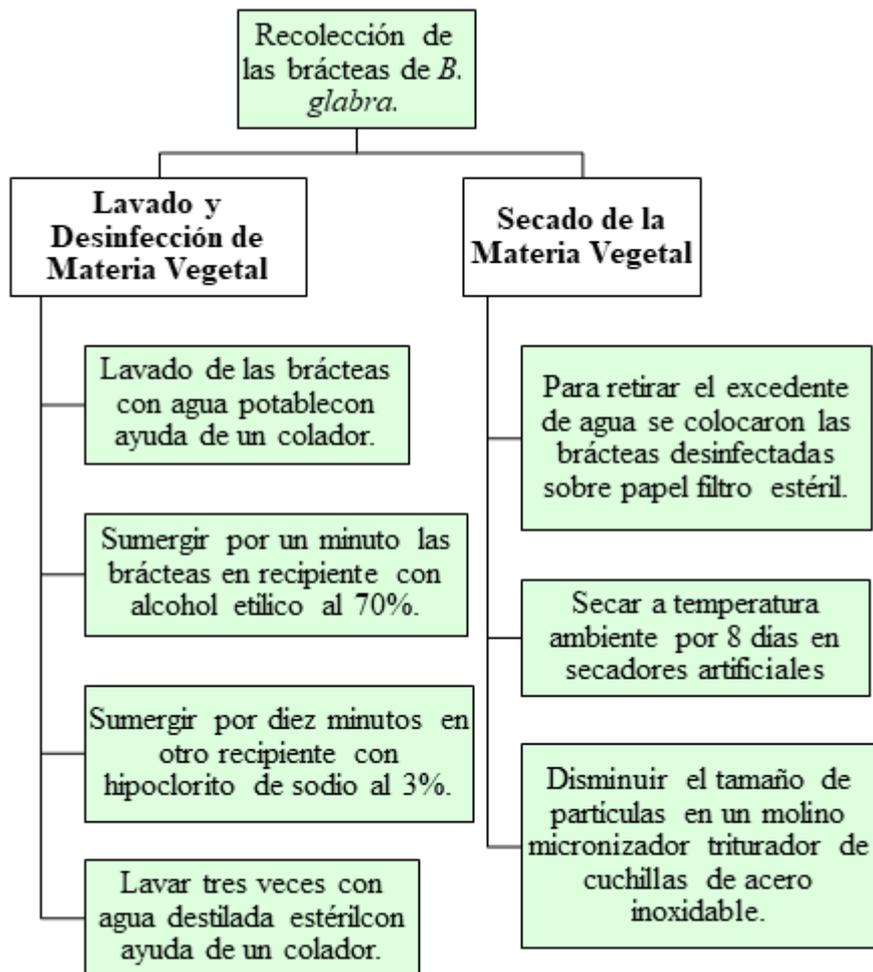
y un alto porcentaje de inhibición frente a bacterias gram positivas y gram negativas.⁵

3.2. Control de calidad del material vegetal en fresco

Realizar el control cualitativo de las brácteas de *B. glabra* recolectadas, de acuerdo con los métodos establecidos por la Organización Mundial de Salud.³¹

3.3. Procesamiento del material vegetal

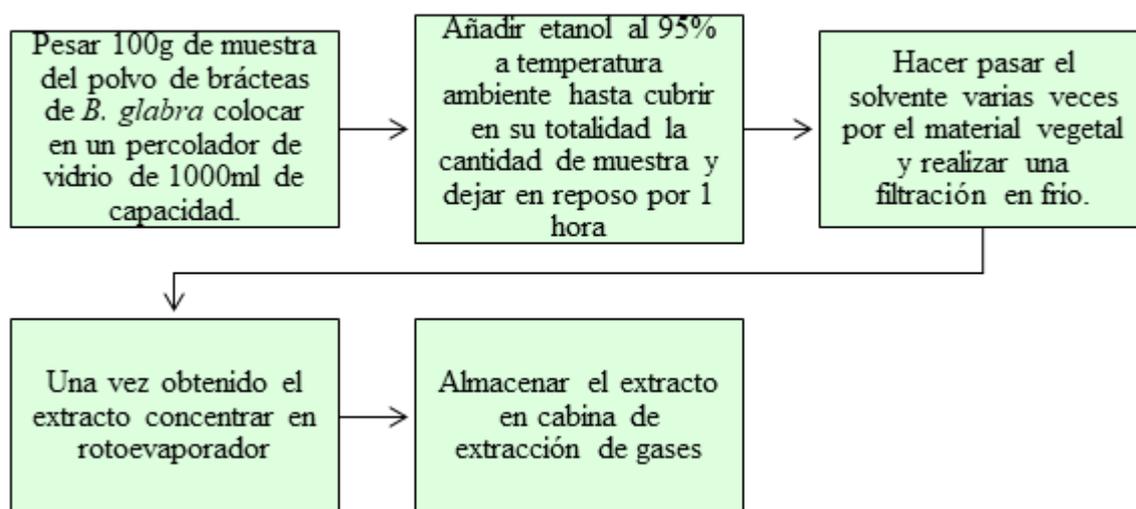
Fig. 2. Procesamiento de brácteas de *B. glabra*.



Fuente: ^{2,8}

3.4. Preparación del extracto

Fig. 3. Método de percolación.



Fuente: ^{2,32}

3.5. Método de Identificación y Cuantificación de Flavonoides

Para el aislamiento de flavonoides se usa el método de solventes de polaridad creciente por 2 días filtrando y evaporando al vacío cada uno de los solventes. La muestra se debe mezclar con éter de petróleo, acetato de etilo, acetona, metanol, metanol:agua (1:1), agua al ambiente y agua caliente. El residuo debe ser purificado con éter de petróleo y acetato de etilo, luego se disuelve con metanol y se pasó por una columna de Sephadex LH-20 como fase estacionaria, y como fase móvil se usó metanol, finalizar recogiendo las distintas fracciones.³⁴

La cuantificación de flavonoides se realiza por el método espectrofotométrico descrito en el estudio realizado por Antonio Manrique y Weyder Santana (2008). Para ello usaron 0,3 ml y 0,4 ml del extracto etanólico del material vegetal en dos balones volumétricos, adicionando a cada uno 15 ml de metanol p.a., 0,5 ml de Cloruro de Aluminio al 5% y se completó con metanol. Este estudio debe ser realizado por triplicado y cada una de las mezclas fueron agitadas y almacenadas en la oscuridad por 30 min. Para determinar la absorbancia se usa 4 ml de cada muestra en una cubeta de cuarzo a 425nm. Como blanco usaron metanol p.a.³³

3.6. Control de calidad del extracto

Tabla 4. Características organolépticas del extracto etanólico de brácteas de *B. glabra*.

PARÁMETROS	EXTRACTO ETANÓLICO
OLOR	Inodoro
COLOR	Corresponde al color de bráctea en estudio
SABOR	Amargo

Fuente: ²³

Tabla 5. Parámetros de calidad del extracto etanólico

PARÁMETROS	EXTRACTO ETANÓLICO
GRADOS BRIX	21,07% ± 0,05
pH	5,02 ± 0,02
IR	1,36 ± 0,00
DENSIDAD	1,06 g/ml ± 0,00
GLUCOSA	21,60% ± 0,02
FRUCTOSA	23,75% ± 0,01

Fuente: ²³

3.7. Actividad Antibacteriana in vitro del extracto

El método de difusión por disco descrito por Kirby, Bauer, Sherris y Turk (1966), es el más usado para determinar la actividad antibacteriana de un extracto con plantas medicinales en varios estudios. ^{2,5,7,8,9,10,11,16,17,18}

3.7.1. Elaboración de la suspensión bacteriana.

Para activar los microorganismos se deben aislar las bacterias usando el método de agotamiento de las muestras por estría en agar nutritivo, que ha sido previamente preparado y esterilizado en autoclave a 121 °C y 1 atm durante 20 minutos y se dejó incubar por 18 a 24 horas a 37°C. Después del tiempo de incubación tomar con un hisopo estéril de 2 a 5 colonias y suspenderlas

en solución salina NaCl a 0,85% hasta alcanzar una turbidez semejante al patrón 0,5 de Mcfarland.²

3.7.2. Método de difusión por disco.

Empezar con la preparación del agar Muller Hinton y esterilizado en autoclave a 121 °C y a 1 atm de presión durante 20 minutos, en el cual se inocula 100 µl/caja de la suspensión bacteriana, luego colocar discos de 6 mm de diámetro previamente impregnados con 10 µl del extracto etanólico de *B. glabra*, usar un control positivo y control negativo, finalmente incubar las cajas Petri a 36 °C por 24 horas. Realizar los ensayos por triplicado.²

Una vez transcurrido las 24 horas de incubación. Medir el diámetro del halo de inhibición formado con el control positivo y el halo de los extractos para calcular el porcentaje de inhibición, usando la siguiente fórmula:²

$$\% \text{Inhibición} = \frac{(\text{Øhalo extracto} - \text{Øhalo blanco})}{(\text{Øhalo control positivo} - \text{Øblanco})} \times 100$$

Fuente: ²

Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) se realiza el método de dilución en agar en microplacas de fondo plano de 24 pozos. Colocar varias concentraciones del extracto objeto de estudio en cada pozo con el agar aún líquido, también se sembraron 2 µl de solución bacteriana a una concentración de $1,5 \times 10^6$ UFC/ml, adicionar el control positivo y el control negativo en una concentración de 100 µl/mg, e incubar a 37°C por 24 horas las microplacas. la determinación del punto final o CMI se debe realizar visualmente considerando la menor concentración del extracto estudiado que haya evitado el desarrollo visible de colonias bacterianas.²

3.8. Diseño de formulación

La siguiente formulación es una propuesta para aprovechar la actividad antibacteriana de un extracto etanólico de brácteas de *B. glabra*, considerando la solubilidad, temperatura de fusión y compatibilidad de los excipientes.

Tabla 6. Formulación de crema hidrófila

COMPONENTE	CANTIDAD	FUNCIÓN
Extracto etanólico de <i>B. glabra</i> 95%	15 ml	Principio activo
Ácido esteárico	8 g	Emulsificante
Alcohol cetílico	3 g	Emoliente
Propilenglicol	10 g	Humectante
Tween 80	1 g	Emulsificante
Ácido Cítrico	0,1g	Antioxidante
Metilparabeno	0,18 g	Preservante
Propilparabeno	0,02 g	Preservante
Agua purificada csp.	100 g	Vehículo

3.9. Protocolo de procesamiento y envasado de la crema**Tabla 7. Procedimiento de elaboración de crema hidrófila.**

#	ACTIVIDADES	OBSERVACIONES
1	Pesar correctamente cada uno de los componentes de la crema en una balanza.	De acuerdo a la formulación establecida.
2	En un vaso de precipitación de 250 ml se prepara la fase acuosa para ello adicionar el agua purificada, el Tween 80, propilenglicol y el ácido cítrico.	
3	En otro vaso de precipitación de 250 ml se prepara la fase oleosa donde se funde el alcohol cetílico y el ácido esteárico.	A una temperatura no mayor a 80°C.
4	Adicionar la fase oleosa poco a poco a la fase acuosa.	Agitar con temperatura de 80 °C hasta formar la emulsión y tener la consistencia adecuada.
5	Retirar la mezcla del fuego y continuar la agitación hasta temperatura ambiente.	
6	Disolver el metilparabeno y propilparabeno en el extracto etanólico de <i>B. glabra</i> y añadir a la mezcla anterior	Disminuir la temperatura a 35°C con la misma intensidad de agitación hasta

		homogeneizar.
7	Envasar en tubo colapsible de PVC y etiquetar.	Envase seleccionado para proteger la crema de la exposición de luz evitando que se degrade sus principios activos y su fácil dispensación. ³⁵

3.10. Ensayos y especificaciones de calidad de la crema

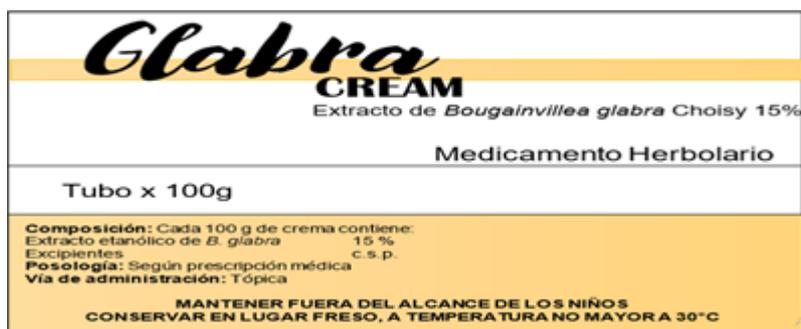
Se propone la metodología y especificaciones de calidad descritas en la Farmacopea USP37/NF 32, para evaluar la calidad de las materias primas y calidad de la crema que se formuló en el presente trabajo investigativo.³⁰

3.11. Estabilidad de la crema

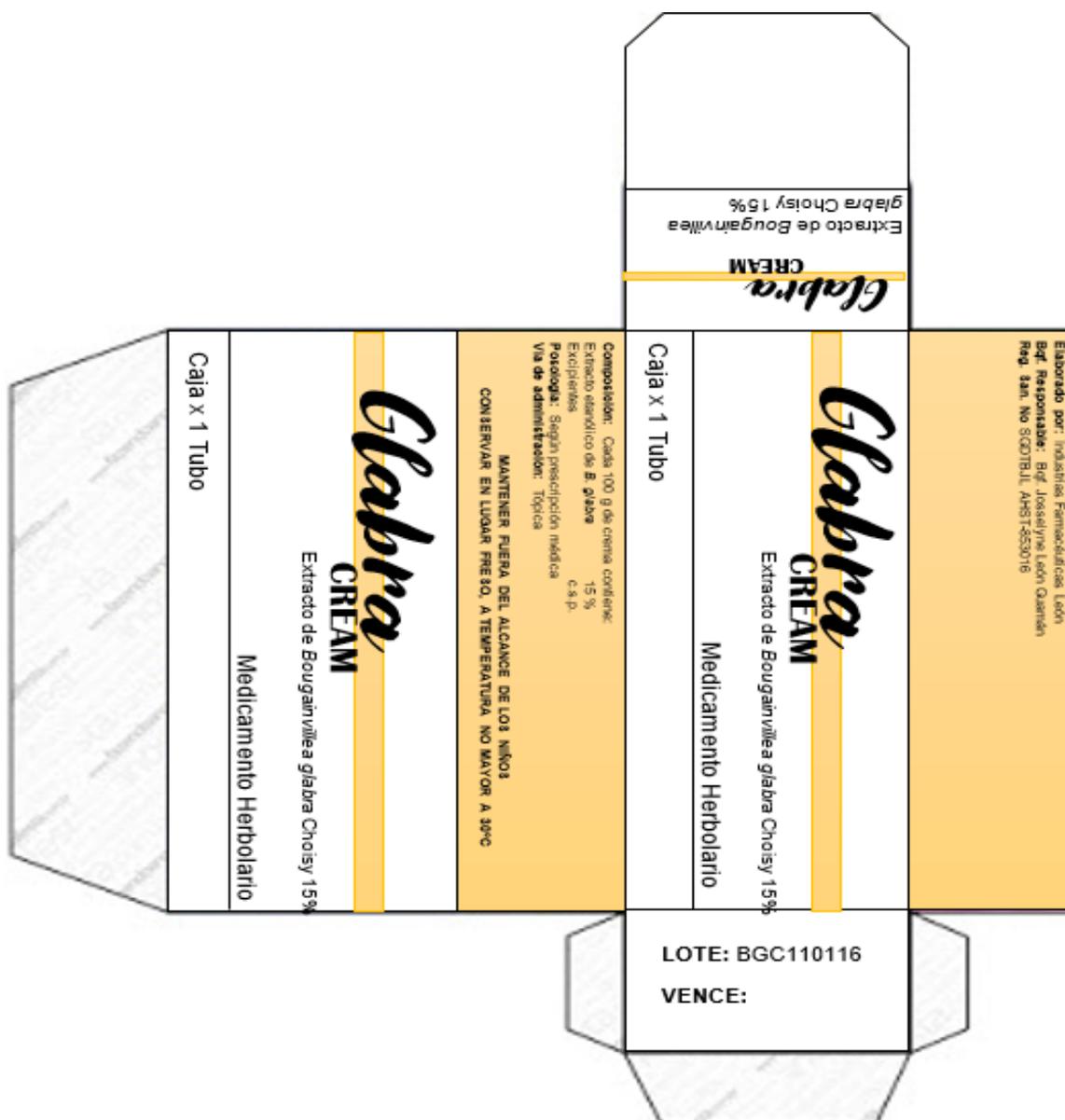
Para el estudio de estabilidad se recomienda seguir la metodología y especificaciones establecidas por el ARCSA y el ICH.^{36,37} Donde se establece que los estudios de estabilidad de cremas deben realizarse en mínimo 3 lotes diferentes, teniendo en cuenta la humedad y temperatura. El estudio a largo plazo se realiza según la zona climática IV, en la zona climática IVA la temperatura es de 30°C y humedad relativa de 65%, en la zona climática IVB la temperatura es de 30°C y humedad relativa de 75%, por un tiempo mínimo de 12 a 6 meses. El estudio acelerado se realiza a 40°C y con una humedad relativa de 75% por un tiempo mínimo de 6 meses. Para el estudio de estabilidad se recomienda seguir la metodología y especificaciones establecidas por el ARCSA y el ICH.^{36,37}

3.12. Etiqueta

3.12.1. Envase primario



3.12.2. Envase secundario



4. CONCLUSIONES

- A través de la revisión bibliográfica se fundamenta por qué se seleccionó la *B. glabra* como planta medicinal por poseer una importante actividad antibacteriana.
- Se establecieron métodos de calidad para la materia vegetal en fresco de acuerdo con la normativa establecida por la OMS.
- Se seleccionó el método de percolación como el más adecuado para la caracterización y aislamiento del metabolito secundario responsable de la actividad antibacteriana en la *B. glabra*, en este caso los flavonoides.
- Se propuso una formulación de crema hidrófila que contendrá extracto etanólico de *B. glabra* como principio activo con actividad antibacteriana.
- Se planteó un protocolo de elaboración y selección del envase de la crema considerando su estabilidad y una fácil dosificación.
- Los ensayos y especificaciones de calidad de la crema se tomaron como referencia a los establecidos por la Farmacopea USP37 / NF32.
- Se propuso seguir la metodología y especificaciones para las pruebas de estabilidad de la crema establecidas por el ARCS y el ICH.
- Se presentó un modelo de etiqueta para el envase primario y envase secundario a través de las recomendaciones generales en la guía de etiquetas establecidas por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima y el ARCSA).

5. RECOMENDACIONES

Se recomienda aprovechar toda la información bibliográfica recopilada y sintetizada en el presente trabajo investigativo para determinar la actividad antibacteriana de la formulación propuesta a través de un trabajo experimental.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Buitrón, X. *Ecuador: Uso y Comercio de Plantas Medicinales*; EcoCiencia: Cambridge, Reino Unido, 1999.
- (2) Corzo Barragán, D. C. Evaluación de La Actividad Antimicrobiana Del Extracto Etanólico. *Rev. Mex. Ciencias Farm.* 2012, 43 (3), 81–86.
- (3) Aguirre Mendoza, Z. *Especies Forestales Mas Aprovechadas En La Región Sur*

Del Ecuador; 2016; Vol. 53.

- (4) Abarca-Vargas, R.; Petricevich, V. L. Bougainvillea Genus: A Review on Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* 2018, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9070927>.
- (5) Cabrera, J.; Dilas, L.; Minchan, P. Determinación de La Actividad Antioxidante y Antimicrobiana Del Extracto Etanólico de La Semilla de Persea Americana Miller Var Hass Palta. *Perspectiva* 2015, 16 (18), 209–219.
- (6) Elumalai, L.; Eswaraiah, C.; Ali, H. In-Vivo Screening of Bougainvillea Glabra Leaves for Its Analgesic, Antipyretic and Anti-Inflammatory Activities. *Asian J. Res. Pharm. Sci.* 2012, 2 (3), 85–87.
- (7) Gupta V; George M; Joseph L; Singhal M; Singh HP. Evaluation of Antibacterial Activity of Bougainvillea Glabra “snow White” and Bougainvillea Glabra “Choicy.” *J. Chem. Pharm. Res.* 2009, 1 (1), 233–237.
- (8) Cardona Bedoya, L.; Rodríguez González, C. A.; Clavijo Maldonado, A. Actividad Antibacteriana de Extractos Etanólicos de Bougainvillea Glabra Choisy (Veranera). *Rev. Nov.* 2017, 3, 1–8. <https://doi.org/10.23850/25004476.1534>.
- (9) Enciso-Díaz, O. J.; Méndez-Gutiérrez, A.; Jesús, L. H. De; Sharma, A.; Villarreal, M. L.; Taketa, A. C. Antibacterial Activity of Bougainvillea Glabra, Eucalyptus Globulus, Gnaphalium Attenuatum, and Propolis Collected in Mexico. *Pharm. Pharmacol. J.* 2012, 03 (04), 433–438. <https://doi.org/10.4236/pp.2012.34058>.
- (10) Edwin, E.; Sheeja, E.; Toppo, E.; Tiwari, V.; Dutt, K. R. Efectos Antimicrobianos, Antiulcerosos y Antidiarreicos de Las Hojas de Buganvilla (Bougainvillea Glabra Choisy). *Ars Pharm.* 2007, 48 (2), 135–144.
- (11) Joshny, J.; Devi, R. D.; Hari, V. B. N. Anti-Cancer and Anti-Microbial Activity of Hydro Alcoholic Extract of Bougainvillea Glabra. *Int. J. Curr. Pharm. Rev. Res.* 2012, 3 (4), 79–85.
- (12) Reyes, L. Identificación de Metabolitos de Bougainvillea Glabra Choise Variedad Variegata y Su Efecto Contra Spodoptera Frugiperda J.E. Smith. *Intituto Politécnico Nac.* 2015, 115.
- (13) Mariajancyrani, J.; Chandramohan, G.; Fathima Beevi, M.; Elayaraja, A. Preliminary Phytochemical Investigation and Antioxidant Activity of Bougainvillea Glabra Choicy Leaves. *Sch. Acad. J. Biosci. Sch. Acad. J. Biosci* 2013, 1 (3), 72–75.

- (14) Jyothi, S. N. and S. A Comparative Phytochemical Analysis of Bougainvillea Glabra. *Int. J. Pharma Bio Sci.* 2012, 3 (3), 247–250.
- (15) Sinha, D.; Tiwari, A. K.; Singh, S.; Shukla, G.; Mishra, P.; Chandra, H.; Mishra, A. K. Antioxidant Activity, Preliminary Phytochemical Investigation and GC-MS Study of Bougainvillea Glabra Choicy Leaves. *Eur. J. Med. Chem.* 2012, 4 (1), 2–6. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.03.022>.
- (16) Linder Escobar Hinojosa, M.; Pinto Davalos, J.; Zabalaga Via, S.; Escalante Lunario, A.; Bustamante Garcia, Z.; para correspondencia, D.; de Fármacos Alimentos Cosméticos, P. Evaluación de La Actividad Antidiarreica y Antibacteriana de Los Extractos de La Semilla de Palto (Persea Americana) y Buganvilla (Bougainvillea Glabra). *Biofarbo* 2010, 18 (2), 53–60.
- (17) Islam, M. Z.; Hossain, M. T.; Hossen, F.; Akter, M. S.; Mokammel, M. A. In-Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activity of Bougainvillea Glabra Flower. *Res. J. Med. Plant* 2016, 10 (3), 228–236. <https://doi.org/10.3923/rjmp.2016.228.236>.
- (18) Cristóvão, R.; Botelho, C.; Martins, R.; Boaventura, R. Phytochemical Screening and Antibacterial Acitivity of Bougainvillea Glabra Plant Extract as Potential Sources of Antibacterial and Resistance-Modifying Agents. *Int. Proc. Chem. Biol. Environ. Eng.* 2012, 32 (1), 12–16. <https://doi.org/10.7763/IPCBEE>.
- (19) Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos: Pruebas químicas-Extractos botánicos. Farmacopea de Los Estados Unidos de América (USP 30) y Formulario Nacional (NF 25). 2006, 1202–1207.
- (20) Escobar Rojas, A. J. Evaluación de La Protección y Liberación Del Extracto de Bugambilia (Bougainvilleasp.) Encapsulado En Perlas de Alginato y Almidón de Maiz. *Univ. Autónoma del Estado México* 2016, 88.
- (21) Espinoza, A.; Espinoza, J. Evaluar El Crecimiento de Estacas de Veranera (Bouganvillea Glabra Choisy) Bajo El Efecto de Biofertilizante Liquido a Base de Estiercol Vacuno. *Univ. Nac. Agrar.* 2008, 37.
- (22) Robles, M.; Jaramillo, G.; Rojas, L. Contenido de Betalainas y Actividad Antioxidante En Brácteas de Bougainvillea Glabra Choisy. *Rev. Cuba. Farm.* 2017, 51 (2), 1–13.
- (23) Perez, E.; Romero, H. Evaluación Preliminar de La Actividad Expectorante y Toxicidad Aguda Oral de Brácteas de Bougainvillea Glabra Choisy. *Univ. Técnica Machala* 2019, No. 3, 70.

- (24) Sáenz Laín, C. Glosario de Términos Palinológicos. *Lazaroa* 2004, 25, 93–112. <https://doi.org/10.5209/LAZAROA.9932>.
- (25) Armijos, J.; Cedeño, R. RELACIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, FLAVONOIDES Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN BRÀCTEAS DE BOUGAINVILLEA GLABRA CHOISY. *Rev. Cubana Enferm.* 2017, 27 (3), 20–29.
- (26) Cartaya, O.; Reynaldo, I. Flavonoides: Características Químicas y Aplicaciones. *Cultiv. Trop.* 2001, 22 (2), 5–14.
- (27) Yambay Calderon, P. F. Elaboración y Control de Calidad de Una Crema a Base de Los Extractos Hidroalcohólicos de Berro (*Nasturtium Officinale*) y Llántén (*Plantago Major*) y Comprobación de Su Actividad Cicatrizante En Heridas Inducidas En Ratones. 2013.
- (28) Vila Jato, J. L. *Tecnología Farmacéutica II*; 2001.
- (29) Rowe, R.; Sheskey, P.; Quinn, M. Handbook of Pharmaceutical Excipients. *Pharm. Press* 2009, E.28, 917.
- (30) USP. *Farmacopea de Los Estados Unidos de América*; 2014.
- (31) WHO. Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials World Health Organization Geneva. *Who* 1998. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.01.003>.
- (32) Ramirez, L.; Diaz, H. Actividad Antibacteriana De Extractos Y Fracciones Del Ruibarbo (*Rumex Conglomeratus*). *Scientia* 2007, No. 33, 397–400.
- (33) Manrique-Santos, A.; Santana-Torres, W. Flavonoides, Actividades Antibacteriana y Antioxidante de Propóleos de Abejas Sin Aguijón, Melipona Quadrifasciata, Melipona Compressipes, Tetragonisca Angustula y Nannotrigona Sp. de Brasil y Venezuela. *Zootec. Trop.* 2008, 26 (2), 157–166.
- (34) De Ruiz, R. E. L.; Fusco, M. D. R.; Sosa, A.; Ruiz, S. O. Aislamiento de Flavonoides y Antraquinonas de *Amaranthus Muricatus* (Moquin) Gillies Ex Hicken (*Amaranthaceae*). *Acta Farm. Bonaer.* 2001, 20 (1), 9–12.
- (35) Román, M.; Aniceto, C.; Pineda, S.; Alatríste, I. Extracción y Estudio Cinético de La Degradación de Las Betalaínas Presentes En La Bugambilia Fucsia (*Bougainvillea Sp*), Una Alternativa Como Colorante Alimentario. 2014, No. 350, 51–62.
- (36) ARCSA. Reglamento de Registro Sanitario Para Medicamentos En General. *Control* 2011, No. 542, 6.
- (37) WHO. Stability Testing of Active Pharmaceutical Ingredients and Fi Nished

Pharmaceutical Products. *World Heal. Organ.* 2009, No. 953, 1–44.