



## DESARROLLO DE UNA FORMA FARMACÉUTICA SEMISÓLIDA DE *IBERVILLEA SONORAE* CON ACTIVIDAD ANTI-INFLAMATORIA.

María Guadalupe Ramírez Sotelo<sup>a</sup>, Elizabeth Govea Cortés<sup>a</sup>, Agustín Ignacio Cabrera Llanos<sup>a</sup>, Ana Belém Piña Guzmán<sup>a</sup>, Gustavo Valencia del Toro<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Av. Acueducto s/n, col. La Lagunilla Ticomán. México D.F. [mgramirez@ipn.mx](mailto:mgramirez@ipn.mx), [eli\\_govea@hotmail.com](mailto:eli_govea@hotmail.com), [acabrerall@ipn.mx](mailto:acabrerall@ipn.mx), [apinag@ipn.mx](mailto:apinag@ipn.mx), [gvalencia@ipn.mx](mailto:gvalencia@ipn.mx).

### RESUMEN:

*Ibervillea sonorae* conocida como wereke es nativa del norte de México y algunos grupos de origen étnico, tales como los indígenas Mayo, Opata, Seri y Yaqui, utilizan la raíz de *I. sonorae* para múltiples propósitos se le ha otorgado diversos usos terapéuticos tales como anti-tumoral, anti-reumático, anti-inflamatorio, analgésico, e hipoglucémico. Estos efectos se le atribuyen principalmente a los metabolitos secundarios presentes en *Ibervillea sonorae* tales como los alcaloides, cumarinas, flavonoides, quinonas y saponinas que nos conllevan a tener propiedades farmacológicas reportadas anteriormente. Dado que no existe una administración adecuada para uso como anti-inflamatorio, se desarrolló una forma farmacéutica semisólida para su uso tópico. Se molió y maceró 500 g de *I. sonorae* en 2 L agua, después se realizó un secado por aspersión (BÜCHI Mini spray dryer B-290) a 130°C. Se cuantificaron metabolitos secundarios como fenoles y flavonoides y fenoles, con estándares de ácido gálico y quercetina respectivamente. Se realizaron estudios de pre-formulaciones en base al extracto en polvo y los excipientes a utilizar. Se prepararon pomadas al 10%, 20%, 30% y 40% para determinar la dosis con mayor efecto anti-inflamatorio mediante el ensayo de edema auricular en murinos. Se emplearon albinos machos de 28 a 35 g, con edades de entre ocho a diez semanas ( $n = 5$ , por grupo) inducido por aceite de crotón al 5% (disuelto en alcohol etílico al 95%) por vía tópica en una cantidad de 50  $\mu$ L/oreja derecha). Se obtuvo tres formulaciones de pomada de *Ibervillea sonorae* y mediante prueba de actividad antiinflamatoria similar a la de indometacina (fármaco de control).

### 1. INTRODUCCIÓN

Por mucho tiempo el uso de plantas medicinales ha sido la base de muchos fármacos que se conocen en la actualidad, con la finalidad de tratar y prevenir diversas enfermedades o patologías que existen con mayor frecuencia. Hoy en día existen diversas enfermedades que ocasionan problemas en los que la inflamación se hace evidente como la artritis reumatoide, arterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas así como también inflamaciones causadas por torceduras, esguinces, traumatismos o simplemente inflamación muscular (Pino y cols., 2004). En este sentido, se tiene el conocimiento sobre el uso de plantas medicinales que se han administrado en su mayoría como emplastos o ungüentos, usualmente empleados por la población para el tratamiento de éstos y otros padecimientos. Desafortunadamente la acción farmacológica en la mayoría de los casos no ha sido completamente identificada, así como también los metabolitos secundarios responsables de esta acción farmacológica. Adicionalmente las organizaciones como la OMS recomiendan realizar ensayos de investigación, desarrollar métodos analíticos y estudios pre-clínicos para el establecimiento de criterios de seguridad, inocuidad y efectividad del consumidor (Jardón, 2013). En relación a ello, se tienen antecedentes que la planta *Ibervillea sonorae* ha demostrado tener efectos antiinflamatorios y analgésicos por poseer metabolitos



secundarios, sin embargo hasta el momento no existen estudios *in vitro* o *in vivo* que respalden esta acción, además la naturaleza química de los metabolitos responsables no han sido completamente elucidados (Nevárez, 2014). El trabajo propone la obtención de extracto de *Ibervillea sonora* con la finalidad de evaluar su actividad anti-inflamatoria y llevarlo a la forma farmacéutica más adecuada para su uso tópico. Para este propósito, se realizó la identificación de excipientes y la implementación de técnicas para formulación, determinación de la dosis necesaria para causar el efecto anti-inflamatorio así como las técnicas para lograr la estabilidad en la forma farmacéutica tópica (Gómez & Tabares, 2013).

## 2. TEORÍA

Existen varios conceptos para definir la inflamación como “la respuesta de defensa, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejido vascularizado por patógenos bacterianos, y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica” (Barreno, 2008) o la definición desde otro enfoque como “la respuesta de defensa del organismo contra una infección o trauma en el cual hay una defensa del sistema inmune para defender a este organismo y mantener su equilibrio” (Fernández y cols, 2011); por otra parte Meza en el 2012 la definió como “el conjunto de mecanismos de respuesta de los tejidos vivos frente a una agresión física, química, infecciosa o autoinmune, que buscan localizar, aislar y destruir un germen agresor y reparar el daño tisular producido por él” (Meza, 2012). El mecanismo de acción de la inflamación está medido por dos tipos celulares: las células que se encuentran permanentemente en los tejidos de manera directa como los mastocitos y células endoteliales que se localizan en los tejidos, El segundo tipo de células son aquellas que migran desde la sangre, y de manera indirecta actúan en el sitio afectado, mejor conocidas como neutrófilos polimorfonucleares, monocitos, macrófagos y linfocitos (Estrada y cols., 2011). Hoy en día existen diversas patologías que como consecuencia provocan una respuesta inflamatoria, lo que implica incapacidad para realizar actividades cotidianas afectando su calidad de vida de forma social, familiar y laboral, como son la osteoporosis, gota, artritis reumatoide, fibromialgia y el estrés, entre otros (Comín, 2014). Para el tratamiento de la inflamación, existen principalmente tres tipos de tratamientos anti-inflamatorios (Estrada y cols., 2011):

- a) Los anti-inflamatorios esteroideos o glucocorticoides: que reducen el número y la activación de eosinófilos mediante la apoptosis. En este grupo de fármacos se encuentran la dexametasona, prednisona, prednisolona, metilprednisolona, cortisona, hidrocortisona, mometasona, entre otros.
- b) Los analgésicos, antipiréticos, antiinflamatorios no esteroideos (AINEs): Tienen una actividad anti-inflamatoria debido a su estructura química que les permite inhibir la síntesis de prostaglandinas a través de la COX1 y COX2; suprimen los signos y síntomas de la inflamación y algunos también ejercen acción antipirética y analgésica.
- c) Compuestos antiinflamatorios de origen natural: se le ha otorgado propiedades anti-inflamatorias a algunos extractos de plantas así como de sus metabolitos secundarios aislados de fuentes naturales (Estrada y cols., 2011). En el 2001 Xagorari, reportó que los flavonoides inhibían TNF- $\alpha$  en macrófagos estimulados con LPS provenientes de luteolina, quercetina y del isoflavonoide genistina. Así mismo la Luteonina, acetato de miristatoforbol (PMA) y ozaxolona. Fueron evaluadas en estudios *in vivo* orejas de ratón obteniendo la disminución de la inflamación.

En los sistemas de salud de los países en desarrollo, las plantas han sido un recurso muy valioso. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que alrededor del 80% de la población mundial utiliza plantas medicinales de manera habitual para tratamiento de diversas enfermedades y que gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos (Bucay, 2009). *Ibervillea sonora*, comúnmente conocida como “guareque,



wereke”; es una planta nativa del norte de México (en zonas semiáridas de los estados de Sinaloa, Sonora, Baja California y el norte de Durango), pertenece a la familia de las curcubitáceas y posee un olor y amargor característico que provoca irritación en nariz y garganta (Guarneros, 2012). Algunos grupos de origen étnico, tales como los indígenas Mayo, Opata, Seri y Yaqui, utilizan la raíz de *I. sonorae* para múltiples propósitos como anti-tumoral, anti-reumático, anti-inflamatorio, analgésico, enfermedades cardíacas, afecciones de la piel, en tratamiento de cáncer y diabetes, sin embargo solo se ha profundizado su investigación para diabetes en diversos ensayos *in vivo* e *in vitro* (Nevárez, 2014).

Las Formas Farmacéuticas en las que se puede encontrar actualmente *Ibervillea sonorae* se muestra a continuación en la figura 5 se pueden encontrar principalmente en farmacias homeopáticas o tiendas naturistas sin embargo hoy en día no existe ninguna pomada de *Ibervillea sonorae* en el mercado que nos brinde una actividad anti-inflamatoria.

### **3. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1 MATERIAL BIOLÓGICO**

La raíz de *Ibervillea sonorae* fue adquirida en el mercado “Sonora” de la delegación Venustiano Carranza, en la Ciudad de México.

#### **3.2 EXTRACCIÓN POR MACERACIÓN**

Modificado de Bañales, 2013. La obtención del extracto se realizó por maceración de 500 g de material vegetal en 2 L de agua destilada por 24 horas, seguido de un proceso de eliminación del agua, después se realizó el secado por aspersión con la finalidad de obtener el extracto total en forma de polvo fino.

#### **3.3 SECADO POR ASPERSIÓN**

Los extractos obtenidos por maceración fueron secados mediante la metodología de secado por aspersión utilizando un secador BÜCHI Mini spray dryer B-290 y el extracto es nombrado como EWMSA (extracto wereke maceración secado por aspersión) mientras que el extracto por infusión es nombrado como EWISA (Mini Spray Dryer B-290, s.f.).

#### **3.4 CUANTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN EL EXTRACTO DE IBERVILLEA SONORAE**

Se realizó la cuantificación a) compuesto fenólicos: las muestras fueron disueltas en etanol (0.1 mg/mL), usando ácido gálico (Sigma) como estándar. A diferentes alícuotas (0 -160  $\mu$ L) en intervalos de 20 $\mu$ L se les adicionó 500  $\mu$ L de agua destilada y 250  $\mu$ L de reactivo de Folin-Ciocalteu 1N (Hycel), sonicando durante 5 minutos. Posteriormente, se adicionaron 1250  $\mu$ L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (P.Q. Monterrey) al 20% y se dejó reaccionar por 20 minutos. La absorbancia fue medida en un espectrofotómetro a 760 nm que es característica en presencia de fenoles.

b) Cuantificación de flavonoides: Modificado de la técnica de Kumazawa. A una alícuota de 1 mg/mL de solución de extracto de *Ibervillea sonorae*, se le adicionaron 0,5 mL de solución etanólica de  $\text{AlCl}_3$  al 2%. Después de una hora de incubación a temperatura ambiente, la absorbancia fue medida a 420 nm. Se usaron soluciones de quercetina (Sigma-Aldrich®) entre 5 – 25  $\mu$ g/mL, para construir la curva de calibración.

#### **3.5 PRE- FORMULACIÓN**

Se siguieron las especificaciones señaladas por la FEUM 2004 para realizar pruebas de tamaño de partícula, ángulo de reposo, densidad compacta, solubilidad, etc.

#### **3.6. FORMULACIÓN**

Se prepararon 3 pomadas al 10%, 20% y 30% de *I. sonorae*. Mezcla 1: En un vaso de precipitado vertió lanolina y fundió en baño maría a 35°C se incorporó extracto de *I. sonorae* en polvo hasta que se disolvió por completo.



Mezcla 2: Simultáneamente en otro vaso de precipitado se vertió vaselina sólida y se fundió en baño maría a 40°C después se agregó alcohol cetílico y metilparabeno hasta su completa disolución.

Después se retiraron ambas mezclas del baño maría y se incorporó la mezcla 2 en la mezcla 1 con agitación constante y vigorosa hasta lograr uniformidad.

### 3.7 RESULTADOS

#### 3.7.1 Determinación de metabolitos secundarios en extracto de *Ibervillea sonorae*.

Los resultados (Tabla 1) muestran que los extractos obtenidos contienen compuestos fenólicos en cantidades significativas, lo que tiene importancia en las actividades biológicas que se le han atribuido a estas plantas, como actividad anti-inflamatoria, antioxidante, etc.

Tabla 1. Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en extracto de *Ibervillea sonorae* empleando ácido gálico y quercetina respectivamente.

Muestra	mg A. G. / g de muestra	mg Quercetina / g de muestra
Extracto	167.2 ± 19.78	49.55 ± 5.5

#### 3.7.2. Pre-formulación

Los resultados obtenidos de la preformulación del extractos de *Ibervillea sonorae* se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. Resumen de los resultados de las pruebas del estudio de pre-formulación

Determinación	Magnitud
Tamaño de partícula (µm)	0.980±0.020
Densidad aparente (g/ml)	0.0882 ±0.0001
Densidad compactada (g/ml)	0.1866±0.0012
Solubilidad (g/ml)	0.011±0.0005 fácilmente soluble
Contenido de humedad %	8.661.01± 2.793

La característica de solubilidad obtenida fue la óptima pues permitió la facilidad de realizar la formulación de la forma farmacéutica propuesta.

#### 3.7.3. Edema auricular inducido por aceite de crotón

Los resultados que se obtuvieron con respecto al porcentaje de inflamación y de inhibición inflamatoria se muestran en la tabla 3 mediante el edema auricular inducido por aceite de crotón.

Tabla 3. Porcentaje de inflamación según el edema auricular inducido por aceite de crotón, porcentaje de inhibición inflamatoria tratado con pomadas preparadas a base de extracto de *Ibervillea sonorae* (wereke) al 10%, 20%, 30%, 40% y administración fármaco indometacina en crema.

	% Inflamación	% Inhibición
Aceite de crotón	69.9229 ±42.26	0.0000
Pomada 10%	69.9140 ±47.26	10.2874 ±26.09
Pomada 20%	50.0000 ±26.61	11.4977 ±11.30
Pomada 30%	33.1429 ±39.43	29.5008 ±11.20



Pomada 40%	37.6744 ± 11.77	25.3656 ± 22.52
Indometacina	30.7471 ± 12.98	31.1649 ± 7.60

El proceso de inflamación fue desencadenado al administrar por vía tópica el aceite de crotón, este proceso se debe a que el aceite de crotón contiene esteres de forbol de la cuales la sustancia más activa es el TPA (Fernández F. U., 2015). El Aceite de crotón desencadena un incremento en el peso de la oreja del ratón, infiltración de células inflamatorias (Yuequin, 2007). La inhibición fue en aumento con respecto a la cantidad de extracto administrado y los resultados fueron los siguientes; para el caso de la pomada a base de extracto de *I. sonoreae* al 10% se tuvo una inhibición inflamatoria de 10.29%, para la pomada al 20% fue de 11.50, pomada 30% fue de 29.50, pomada 40% fue de 25.37 y para control positivo con fármaco indometacina en crema fue de 31.16%. Algunos reportes confirman que la indometacina es uno de los fármacos que ayuda a bloquear el edema agudo inducido por aceite de crotón (Yuequin, 2007). La pomada a base extracto de *Ibervillea sonoreae* al 30% tiene un comportamiento similar a la de la indometacina.

#### 4. CONCLUSIONES

1. Se logró desarrollar una forma farmacéutica semisólida de *Ibervillea sonoreae* con actividad anti-inflamatoria.
2. Se obtuvieron extractos totales de *Ibervillea sonoreae* por maceración y secado por aspersión.
3. Se realizó la cuantificación de metabolitos secundarios en extracto acuoso de *Ibervillea sonoreae*.
4. Se desarrolló y caracterizó la forma farmacéutica semisólida (pomadas) mediante características organolépticas y físicas similares entre sí, con pH de 7, opacas con color amarillo ámbar, textura suave y grasa.
5. Se determinó la dosis del extracto de *Ibervillea sonoreae* mediante los porcentajes de inflamación y los porcentajes de inhibición inflamatoria de las pomadas; la pomada elaborada al 30% de extracto obtuvo porcentaje de inhibición similar a la del fármaco indometacina.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Barreno, P. G. (2008). "Inflamación". Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat. (Esp), 91-159.
2. Bucay, L. C. (2009). "Estudio Farmacognóstico y Actividad Antimicrobiana de la Violetilla (*Hybanthus parviflorus*)".
3. Comín, D. E. (2014). "El estrés y el riesgo para la salud". MAZ departamento de prevención, 46.
4. Estrada y cols., H. A. (2011). "Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales". Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, 37.
5. Fernández y cols., L. A. (2011). "Efecto de árnica en un modelo *in vitro* con citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias. Fase II". Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina, Medicina Alternativa., Bogotá.



6. Fernández, F. U. (2015). "Inflamación y plantas medicinales". Obtenido de [http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/import/Inflamacion\\_plantas\\_medicinales.pdf](http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/import/Inflamacion_plantas_medicinales.pdf)
7. Gómez, S. V., & Tabares, V. P. (2013). "Actividad anti-inflamatoria in vitro de los extractos y fracciones obtenidas de la corteza interna de *tabebuia chrysantha*". Universidad Tecnológica de Pereira.
8. Guarneros, D. d. (2012). "Evaluación de la raíz toxicológica de la raíz de *Ibervillea sonora*". Latinoamericana de Química. Pp.259.
9. Jardón, D. Á. (2013). "*Ibervillea sonora*, posible cura de cáncer y diabetes". Programa de jóvenes hacia la investigación en humanidades y ciencias sociales Naucalpan. Pp. 10.
10. Meza, J. E. (2012). "Efecto de *Árnica Montana* L. Homeopatizada en la Regulación de Citoquinas Proinflamatorias y Antiinflamatorias en Cultivos Celulares de Linfocitos T Humanos". Maestría en Medicina Alternativa – Homeopatía, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina, Bogotá, D.C.
11. Pino y cols., S. P. (2004). "Fuente de Metabolitos Secundarios con Actividad Biológica". Centro de Química Farmacéutica y CINVESTAV-IPN.
12. Xagorari, A. P. (2001). "Luteolin inhibits and endotoxin-stimulated phosphorylation cascade and proinflammatory cytokine production in macrophages". *J Pharmacol Exp Ther*.
13. Yuequin, Z. (2007). "Identificación y actividad farmacológica de principios de especies anti-inflamatorias". Universidad de Valencia, Departamento de Farmacología. Servei de Publicacions.