

# Uso de las flores de *Cantua buxifolia* Juss en la elaboración de colirio para la irritación ocular

Enrique Christian Montánchez Mercado  
<https://orcid.org/0000-0003-0067-7778>  
enriquemontanchez@unmsm.edu.pe Universidad  
Nacional Mayor de San Marcos,  
Lima – Perú.

Silvana Yanire Sam Zavala  
<https://orcid.org/0000-0001-5676-8914>  
si\_sam\_za@doc.uap.edu.pe  
Universidad Alas Peruanas  
Lima – Perú

Pedro Aníbal Solís Céspedes  
<https://orcid.org/0000-0002-7339-8721>  
p\_solis\_ce@doc.uap.edu.pe  
Universidad Alas Peruanas  
Lima, Perú

Máximo Ramírez Julca  
<https://orcid.org/0000-0002-1385-3139>  
m\_ramirez\_ju@doc.uap.edu.pe  
Universidad Alas Peruanas  
Lima, Perú

Recibido (11/03/2022), Aceptado (13/05/2022)

**Resumen.**-El objetivo de este trabajo fue comparar las diferentes concentraciones de colirio de *Cantua buxifolia* gus, ex Lam con diferentes sustancias permite el uso oftalmológico sin causar irritación ocular agudo. Este método se basa en el método de la membrana del huevo asmático coroideo. (HET-CAM). Los resultados muestran el peso, volumen, prueba de densidad y parámetros del huevo, así con la fertilización, cumpliendo con los criterios especificados en Tecnología HET-CAM - INVITTOX (Protocolo 108). Finalmente se concluye que el enfoque de Colirio de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam, con un índice de irritación de 1 mg/ml, 2 mg/l, 3 mg/ml es cero y una concentración de 4 mg/ml es la dosis máxima tolerada.

**Palabras clave:** Dosis toxica, irritación ocular, ciprofloxacino, membrana corioalantoidea.

Use of the flowers of *Cantua buxifolia* Juss in the preparation of eye drops for eye irritation

**Abstract.-** The objective of this work was to compare the different concentrations of eye drops of *Cantua buxifolia* gus, ex Lam with different substances that allow ophthalmological use without causing acute eye irritation. This method is based on the choroidal asthmatic egg membrane method. (HET-CAM). The results show the weight, volume, density test and parameters of the egg, as well as fertilization, complying with the criteria specified in HET-CAM Technology - INVITTOX (Protocol 108). Finally, it is concluded that the approach of *Cantua buxifolia* Juss eye drops, ex Lam, with an irritation index of 1 mg/ml, 2 mg/l, 3 mg/ml is zero and a concentration of 4 mg/ml is the maximum dose. tolerated.

**Keywords:.** Toxic dose, ocular irritation, ciprofloxacin, chorioallantoic membrane.

## I. Introducción

En la actualidad la Conjuntivitis es la inflamación de la membrana mucosa que recubre el párpado y la superficie del ojo. Presentan unas manifestaciones comunes (enrojecimiento, fotofobia y lagrimeo) y otras dependientes de su causa (legañas matutinas en las infecciosas, ganglios aumentados de tamaño en las víricas, picazón en las alérgicas, etc.) con una duración de entre una y tres semanas.

La conjuntivitis alérgica es un problema de salud pública a nivel mundial. Se ha publicado que la prevalencia en diferentes poblaciones está entre 15% y 30% de la población [1].

Los síntomas y signos más frecuentes incluyen enrojecimiento del ojo, picor, lagrimeo intermitente, fotofobia y sensación de cuerpo extraño. Frecuentemente, se asocian síntomas de rinitis alérgica, como estornudos y destilación nasal.

Según la Organización Mundial de Salud, a nivel mundial, por lo menos 2200 millones de personas tienen deficiencia visual o ceguera, de las cuales al menos 1000 millones tienen una deficiencia visual que podría haberse evitado o que aún no ha sido tratada, entre ellas la conjuntivitis [2].

Los datos proporcionados por la Organización Panamericana de la Salud evidencian que en Latinoamérica y el Caribe, por cada millón de habitantes, existen 5000 ciegos y 20.000 personas con algún grado de discapacidad visual entre ellas la conjuntivitis, cuyas causas, en el 80% de los casos son prevenibles [3].

La principal finalidad de este trabajo fue determinar la concentración de colirios elaborados a base de flores de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam, que pueden presentar irritación ocular aguda, analizados por el método HET-CAM. Además, se intentó analizar la irritación ocular aguda del colirio de *Cantua buxifolia* Juss a diferentes concentraciones mediante el método HET-CAM. No se ha pasado por alto la evaluación de la irritación ocular aguda del colirio de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam, en comparación con el colirio de ciprofloxacino [4].

## II. Desarrollo

### A. *Uso Del Metodo: Het-Cam*

El objetivo de este método es evaluar el efecto irritante de los químicos que utilizan la placenta, en esta técnica podemos observar cambios que ocurren en la membrana como hemorragia, vasoconstricción y coagulación. Los huevos fertilizados se incuban por menos de 10 días porque después de 10 días el feto ha desarrollado un sistema nervioso que puede causar dolor. La concentración de sustancias utilizadas en el método Het-Cam suele ser inferior al 5%. Esta técnica implica el uso del modelo CAM, un modelo que simula el ojo humano, para permitir la posibilidad de utilizar y medir la toxicidad de los productos químicos utilizados en la industria para este fin. Los huevos son fertilizados por un máximo de 10 días. huevos y exponer el corion del huevo al medio ambiente, porque aquí es donde el huevo es grande, contiene aire, la habilidad del analizador es muy importante al abrir los huevos, antes de la CAM, encontraremos ver.

Esta película blanca debe retirarse humedeciéndola con suero fisiológico durante 5 minutos, y después de retirarla, se observará que la CAM es una membrana muy perfundida y vascularizada.

### B. *Preparación De La Membrana Corioalantoidea.*

La figura anterior muestra la preparación de la membrana, primero se corta la cáscara del huevo (a) y se retira la primera membrana blanca (b) para revelar la CAM. Luego se aplican los productos (c) y los fenómenos se evalúan visualmente (d).

Exponer la coroides a solución salina y lauril sulfato de sodio y preparar gotas oftálmicas de *Cantua Poxyfolia* Gus a 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml y 4 mg/ml, se preparará una solución y 0,3 mL de solución aplicada al corion durante 20 segundos. Luego se lava con agua destilada y se observa la membrana para ver la aparición de manchas hemorrágicas, vasoconstrictoras y manchas de coagulación. Luego se agrega cuidadosamente la mezcla (gotas para los ojos). Los cambios en la tarjeta se registrarán en 5 minutos. Para calcular el índice de irritación ocular es necesario utilizar la siguiente fórmula para estimar el tiempo de aparición de diversos fenómenos como hemorragia, coagulación y vasoconstricción.

$$IIO = \frac{(301 - h)x5}{300} + \frac{(301 - v)x7}{300} + \frac{(301 - c)x9}{300} \quad (1)$$

Las letras h, v y c corresponden a los tiempos de aparición de hemorragia y se expresa en segundos, lo mismo para los parámetros de vasoconstricción y coagulación, respectivamente.

**Tabla 1.** Índice de irritación ocular por el método HET-CAM

IIO	Clasificación
De 0 a 0,9	No irritante
De 1 a 4,9	Ligeramente irritante
De 5 a 8,9	Irritante
De 9 a 21	Muy irritante

### C. Descripción Del Colirio

Es una solución estéril, agua o aceite, o suspensión de uno o más de los principios activos, destinada a la instilación en el ojo. Por ejemplo, las gotas para los ojos pueden contener excipientes, Para ajustar el tono o la viscosidad de la preparación, para ajustar o estabilizar el pH, para aumentar la solubilidad del principio activo o para estabilizar la preparación. Estas sustancias no afectan el efecto medicinal esperado y no causan una irritación local excesiva en las concentraciones utilizadas. Se entiende que los requisitos galénicos para los colirios son el cumplimiento de las siguientes condiciones: esterilidad, pH, osmolaridad y transparencia. Las lágrimas regulares tienen un pH de alrededor de 7,4 y tienen cierta capacidad reguladora. El ojo tolera fácilmente una solución de cloruro de sodio al 0,6 - 2% (205-684 mOsm / L), ya que estas soluciones se diluyen rápidamente con las lágrimas. La versión actual de la USP 43 se publicó oficialmente el 1 de noviembre de 2019. Se realizarán las pruebas establecidas en la USP para determinar el pH, la osmolalidad y la esterilidad.

Fórmula Patrón. En general, se ajusta a:

Principio activo..... x%

La *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam (La floración se da a partir del mes de Mayo a Diciembre 2021).

Material y equipos:

Balanza Analítica

de nivel Estándar

Agitador mecánico

multipruebas Vasos

de precipitados y

probetas.

Autoclave Tipo N

Campana de flujo laminar vertical Modelo CFV Marca TecnoLab

Equipo para esterilización adecuada a las características de la preparación 3M

Entorno. Humedad relativa:  $\leq 60\%$  Temperatura:  $25 \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$  Excepto los casos en que las especificaciones de la formulación requieran otras condiciones.

### **III. Metodología**

La muestra estuvo constituida por huevos fértiles fecundados (*Gallus gallus domesticus*) y hojas y Flores de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam.

#### *Unidad de análisis*

- Huevos fértiles fecundados (*Gallus gallus domesticus*).

- Hojas y Flores de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam.

#### *Población de estudio*

Población Animal: SESENTA (60) Huevos fértiles fecundados (*Gallus gallus domesticus*).

Población Vegetal: 1 Kg. de Hojas y Flores de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam.

---

### *Muestra*

Muestra Animal: Se tomaron 27 huevos (*Gallus gallus domesticus*) divididos de manera aleatoria en 9 grupos de 3.

Muestra Vegetal: Se utilizará 200 gr. de Hojas y 36 gr. Flores de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam.

### *Criterios de Selección*

- Huevos fecundados.
- Huevos con peso promedio de 50 - 65 g.
- Huevos en perfecto estado.

### *Criterios de Inclusión*

Huevos fértiles con una incubación máxima de 10 días

### *Criterios de Exclusión*

Huevos fértiles con una incubación posterior a los 10 días.

Se realizaron nueve grupos para la recolección de datos, cada uno con sus especificaciones particulares.

Grupo I: Consta de 3 ensayos HET-CAM de Colirio de Ciprofloxacino a 1 mg/mL (Standar). Se procederá a añadir la sustancia sobre la membrana de los huevos, y se observará reacciones de hemorragia, lisis (desintegración de los vasos) y coagulación (desnaturalización de las proteínas intra y extravasculares)

Grupo II: Consta de 3 ensayos HET-CAM de Colirio de Ciprofloxacino a 2 mg/mL (Standar). Se procederá a añadir la sustancia sobre la membrana de los huevos, y se observará reacciones de hemorragia, lisis (desintegración de los vasos) y coagulación (desnaturalización de las proteínas intra y extravasculares)

Grupo III: Consta de 3 ensayos HET-CAM de Colirio de Ciprofloxacino a 3 mg/mL (Standar). Se procederá a añadir la sustancia sobre la membrana de los huevos, y se observará reacciones de hemorragia, lisis (desintegración de los vasos) y coagulación (desnaturalización de las proteínas intra y extravasculares).

Grupo IV: Consta de 3 ensayos HET-CAM de Colirios de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam a 1 mg/mL (Muestra a estudiar). Se procederá a añadir la sustancia en estudio sobre la membrana de los huevos, y se observará reacciones de hemorragia, lisis (desintegración de los vasos) y coagulación (desnaturalización de las proteínas intra y extravasculares)

Grupo V: Consta de 3 ensayos HET-CAM de Colirios de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam a 2 mg/mL (Muestra a estudiar). Se procederá a añadir la sustancia en estudio sobre la membrana de los huevos, y se observará reacciones de hemorragia, lisis (desintegración de los vasos) y coagulación (desnaturalización de las proteínas intra y extravasculares)

Grupo VI: Consta de 3 ensayos HET-CAM de Colirios de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam a 3 mg/mL (Muestra a estudiar). Se procederá a añadir la sustancia en estudio sobre la membrana de los huevos, y se observará reacciones de hemorragia, lisis (desintegración de los vasos) y coagulación (desnaturalización de las proteínas intra y extravasculares)

*Grupo VII: Consta de 3 ensayos HET-CAM del control negativo: Suero fisiológico NaCl 0.9%. El Suero fisiológico: siendo una sustancia de pH neutro no produce reacciones tóxicas e irritantes en la membrana Corioalantoidea. Resultado una sustancia no irritante.*

*Grupo VIII: consta de 3 ensayos HET-CAM del control positivo: Lauril Sulfato de Sodio SLS 1% . El lauril sulfato de sodio, usado en la industria cómo detergente por ser un tensoactivo iónico, empleado en diversos productos de higiene personal como pasta de dientes, champú y jabones de baño, entre los efectos dañinos están remover aceites y grasas de la piel, así como causar irritación en piel y ojos. Por sus propiedades irritantes es usada en el método het-cam como un control positivo.*

*Grupo IX: Consta de 3 ensayos HET-CAM de Colirios de Cantua buxifolia Juss, ex Lam a 4 mg/mL, (Muestra a estudiar), para observar signos de irritación aguda y considerar sino lo hubiera como dosis máxima tolerada y si lo hubiera como irritación toxica severa para no recomendar su uso a esta concentración.*

#### A. Recolección Y Selección De Los HuevosFértiles

*Prueba de densidad en el agua para determinar el daño interno de los huevos, obteniendo de este control un total de 50 huevos óptimos para la incubación.*



*Fig. 1. Prueba de densidad positiva, se observa en la imagen el huevo fértil con densidad óptima (cámara de aire óptima)*



*Fig. 2. Prueba de densidad contaminada. Se observa en la imagen huevos que no pasaron la prueba de densidad. Cámara de aire contaminada*

Se utilizó un ovoscopio SL-PL con iluminación LED de última generación para emisión de Luz hasta 40%

#### *B. Incubación de los huevos fértiles seleccionados*

Se utilizó una incubadora R-COM3 de Huevos OLBA con volteo automático.

Los huevos que han pasado todos los criterios de exclusión se depositan en la incubadora. La incubación se inició con éxito con todos los indicadores óptimos (temperatura y humedad relativa constante)

#### *C. Volteo automático, temperatura y humedad*

A partir del tercer día se realiza una inversión de la cohesión fetal, luego se programa para rotar automáticamente cada 4 horas, la temperatura adecuada para el desarrollo fetal es de 37.8°C, y la humedad relativa entre 55 y 65, debe mantenerse hasta el noveno día.

#### *D. Elaboración de colirios*

##### *Prueba de solubilidad del ciprofloxacino*

Se hizo una prueba de solubilidad para esto, pusimos 1g de ciprofloxacino USP en 20ml de una taza y lo agregamos con agua y el resultado fue soluble en agua.

##### *Cámara de flujo laminar*

Los solutos junto con otras entradas se dirigen a una campana de humos de flujo laminar y encendemos la lámpara UV del dispositivo durante 5 minutos para garantizar la esterilidad futura de las gotas para los ojos, después de lo cual continúo activando la entrada de aire de la campana de humos de flujo laminar. (Filtro HEPA)

##### *Delinear la cámara de aire*

Procedemos a pelar cuidadosamente la cáscara. Encontraremos la membrana que recubre el corion. Se procedió a retirarla membrana de la cámara de aire.

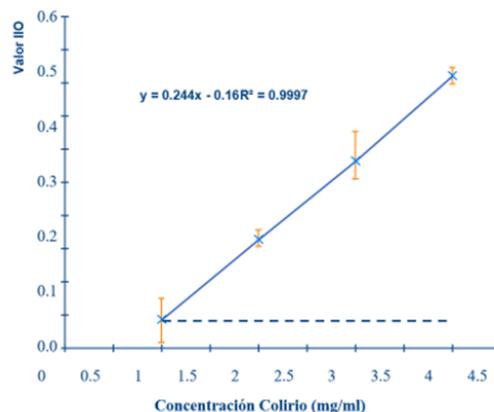


Fig. 1. Concentración del colirio.

Este gráfico muestra la relación entre la concentración del colirio y el valor del IIO. El valor del R2 indica que el modelo es capaz de explicar el 99.97% de los valores incluidos en el modelo. Para verificar que el modelo es significativo, se ejecuta un ANOVA. El valor F del ANOVA es 6588, lo que significa que la variación promedio de la regresión es más de 6000 veces superior a la de los residuos. Como el valor crítico de F (p-valor) es menor a 0.05, se concluye que el modelo de regresión es estadísticamente significativo.

#### IV. Resultados

Se analizó el colirio realizado con flores, y se evaluó la clasificación de las sustancias irritantes HET-CAM (Tabla 2).

**Tabla 2.** Análisis de la irritación ocular aguda del colirio elaborado de las flores de la *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam, analizado por el método HET-CAM.

Nivel de toxicidad ocular aguda	P
Antes del análisis de la irritación ocular aguda	0.000*
Después del análisis de la irritación ocular aguda	

\*T de Student para dos muestras relacionadas.

Al encontrar un p menor a 0.05 ( $p=0.000$ ), se rechaza la hipótesis de que el colirio elaborado de las flores de la *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam, analizado por el método HET-CAM, es una solución apta ya que no genera irritación ocular aguda.

Al encontrar un p menor a 0.05 ( $p=0.000$ ), se rechaza la hipótesis de que el colirio de la *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam, elaborada a diferentes concentraciones analizada por el método HET-CAM, es una solución apta ya que no genera irritación ocular aguda (Tabla 4).

**Tabla 3.** La irritación ocular aguda en el colirio de la *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam, elaborada a las concentraciones 1 mg/mL 2 mg/mL 3 mg/mL 4 mg/mL por el método HET-CAM.

Nivel de toxicidad ocular aguda	P
Antes del análisis de la irritación ocular aguda	0.000*
Después del análisis de la irritación ocular aguda	

\*Chi cuadrado para dos muestras relacionadas.

Según los datos obtenidos se rechaza la hipótesis de que las concentraciones del colirio de la *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam, en comparación con el colirio de Ciprofloxacino son aptas porque no son irritantes.

Los valores de temperatura, humedad relativa, fecha de incubación, peso, volumen y parámetros de densidad de huevos fecundados (*Gallus gallus localus*) respectivamente corresponden a los estándares especificados en la técnica HET-CAM - INVITTOX (protocolo 108) propuesta por Luppke, esta se comparó el procedimiento con el de [5], análisis de toxicidad oftálmica del colirio de voriconazol y fluconazol con HET-CAM, donde se realizaron los mismos controles de calidad.

Se encontró que concentraciones de *Cantua buxifolia* Juss colirio, ex Lam, a 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml tienen un índice de irritación de 0, determina el no tóxico y la concentración 4mg/ml es la máxima tolerada dosis.

Por lo tanto, no muestran signos evidentes de irritación aguda. Las concentraciones de *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam, colirio a 1 mg/ml, 2 mg/ml y 3 mg/ml en comparación con el colirio de ciprofloxacina a la misma concentración dieron como resultado lo siguiente:

Sin irritación y resultados de ciprofloxacina: No - leve malestar e incomodidad. Asimismo, cabe señalar que *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam colirio a 4 mg/ml también produce resultados discretos.

### **Conclusiones**

Los valores de temperatura, humedad relativa, días de incubado y los parámetros de peso, tamaño, pruebas de densidad, de los huevos fértiles fecundados (*Gallusgallus domesticus*), cumplen con los parámetros establecidos en la técnica HET- CAM – INVITTOX (protocolo 108).

Se encontró que las concentraciones del colirio de la *Cantua buxifolia* Juss, ex Lam, a 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml el índice de irritación eran nulos, determinando concentraciones no tóxicas y la concentración 4mg/ml como dosis máxima tolerada.

Las concentraciones del colirio de la *Cantuabuxifolia* Juss, ex Lam, a 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml y 4 mg/ml dieron como resultado de No irritante. Y el colirio de Ciprofloxacino a las concentraciones de 1 mg/ml, 2 mg/ml y 3 mg/ml, dieron como resultado: No irritante y ligeramente irritante.

## Referencias

- [1] M. Roat, «msdmanuals,» Octubre 2019. [En línea]. Available: <https://www.msdmanuals.com/es-es/professional/trastornos-oft%C3%A1lmos/trastornos-conjuntivales-y-esclerales/conjuntivitis-al%C3%A9rgica>.
- [2] Organización Mundial de la Salud, «who.int,» 8 Octubre 2019. [En línea]. Available: <https://www.who.int/es/news/item/08-10-2019-who-launches-first-world-report-on-vision>.
- [3] Organización Panamericana de la Salud, «paho.org,» 2018. [En línea]. Available: <https://www.paho.org/es/temas/salud-visual#:~:text=La%20ceguera%20y%20la%20discapacidad,rurales%20que%20en%20barrios%20ricos..>
- [4] E. Taype, «cybertesis,» 2015. [En línea]. Available: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4474>.
- [5] A. Batista, G. Murillo, U. Pérez, E. Tur, D. Portuondo y O. Pérez, «medigraphic,» 2011. [En línea]. Available: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=36003>.

**Los autores:**

**Enrique Christian Montánchez Mercado**, Químico Farmacéutico y Bioquímico, Maestro en administración de Servicios de Salud, Especialización en Alta Dirección en Salud Pública y Hospitales por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Diplomado en Gestión Farmacéutica por la Universidad Particular San Martín de Porres, Diplomado en Docencia Universitaria, Docente de Pregrado de la Carrera de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Científica del Sur.



**Silvana Yaniré Sam Zavala**. Química Farmacéutica y Bioquímica, Maestra en Administración de Servicios de Salud, Doctora en Medioambiente y Desarrollo Sostenible, Par Evaluador Internacional para Acreditación Universitaria, Evaluadora de Competencias profesionales SINEACE, Auditor Interno de Sistemas de Gestión de Calidad ISO 9001:2015, Auditor Interno de Sistemas de Gestión Antisoborno ISO 37001: 2016, Past Decana de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Interamericana para el Desarrollo, Ex Directora Ejecutiva en la Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria del Ministerio de Salud, Investigadora en el Área de Toxicología y Medioambiente en INNOVACARE, Miembro de la Sociedad Peruana de Salud Pública y Medio Ambiente, Miembro del Consejo Consultivo de la Carrera Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias en la Universidad San Ignacio de Loyola.



**Pedro Anibal Solis Cespedes**. Doctor en salud pública. Maestro en salud pública con mención en epidemiología. Inspector en saneamiento ambiental. Médico Veterinario. Coronel en retiro PNP. Docente con experiencia en el campo de la investigación. Expositor y conferencista en temas ambientales, veterinarios, de salud pública, de epidemiología y de investigación. Expositor en eventos científicos y académicos a nivel nacional. Actualmente docente a tiempo completo de posgrado en la Universidad Alas Peruanas.



**Máximo Ramírez Julca**. Doctor en Educación y Doctor en Administración, Maestro en Docencia Universitaria y Gestión Educativa por la UAP, Bachiller en Ciencias de la Educación y Licenciado en Educación USMP, es un profesional de la educación y especialista en el campo de la investigación. Consultor y asesor en proyectos educativos para gobiernos regionales y entidades del Estado, docente universitario con categoría de asociado, actualmente se desempeña como docente a tiempo completo en la Escuela de Posgrado de la Universidad Alas Peruanas