



**Universidad
Norbert Wiener**

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE Y TOXICIDAD
DÉRMICA DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
LA CORTEZA DE *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f.
ex K. Schum “Capirona” EN RATAS ALBINAS HOLTZMAN.**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Presentado por:

Br. Gamboa Ortiz, Milagros Ruth

Br. Miranda Rivera, Estefani Samantha

Asesor:

Dra. Chávez Flores, Juana Elvira

Lima – Perú

2020

DEDICATORIA

El trabajo realizado es dedicado a Dios, a mis padres por el ejemplo de perseverancia y principios durante mi etapa de formación académica, que fue el principal motivo de superación y a mi hermana Lic. Elizabeth Gamboa Ortiz por el apoyo brindado.

Br. Gamboa Ortiz, Milagros Ruth

El presente trabajo está dedicado a mis padres por haber sido mi apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria, por ser el pilar más importante y darme el apoyo incondicional, a todas las personas especiales que me acompañaron en esta etapa, aportando a mi formación tanto profesional y como ser humano.

Br. Miranda Rivera, Estefani Samantha

AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento a la Dra. Juana Elvira Chávez Flores por haber aceptado ser nuestra asesora y guiarnos en la elaboración de esta investigación, con esa vocación que se le caracteriza.

Br. Gamboa Ortiz, Milagros Ruth

Br. Miranda Rivera, Estefani Samantha

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
-Situación problemática	2
- Marco teórico referencial	3
- Antecedentes nacionales	12
- Importancia y justificación de la investigación	14
- Objetivo del estudio	14
- Hipótesis de investigación	15
II. MATERIALES Y MÉTODOS	16
2.1. Enfoque y diseño	16
2.2. Población, muestra y muestreo (criterios de inclusión y exclusión)	16
2.2.1. Población y Muestra	16
2.2.2. Muestreo	17
2.2.2.1. Criterios de inclusión	17
2.2.2.2. Criterios de exclusión	17
2.3. Variable de estudio general	1818
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	18
2.5. Proceso de recolección de datos	18
2.6. Métodos de análisis estadístico	25
2.7. Aspectos bioéticos	25

III. RESULTADOS	26
3.1. Prueba de solubilidad	26
3.2. Análisis cualitativo	27
3.3. Efecto cicatrizante	28
3.4. Toxicidad Dérmica	33
3.5. Análisis estadístico	388
IV. DISCUSIÓN	50
550	
4.1. Discusion	50
4.2. Conclusiones	53
4.3 Recomendaciones	53
CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	54
ANEXOS	59
Anexo A: Matriz de consistencia	60
Anexo B: Operacionalización de variables	611
Anexo C: Comité de ética	62
Anexo D: Taxonomía de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f . ex K. Schum “Capirona”.	63
Anexo E: Recolección de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f . ex K. Schum “Capirona”.	64
Anexo F: Molienda y preparación del macerado etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.	64
Anexo G: Filtración del macerado etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona” y obtención del extracto.	65
Anexo H: Prueba de solubilidad del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.	65

Anexo I: Análisis cualitativo del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.	66
Anexo J: Pesado de los animales, delimitación y depilación del área seleccionada para el tratamiento.	66
Anexo K: Ratas anestesiadas con pentobarbital 40 mg /kg y después se realiza la escisión en el dorso de cada uno de ellos.	67
Anexo L: Administración tópica de los geles a diferentes concentraciones a base del extracto etanólico de los <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.	67
Anexo M: Administración por vía tópica y dérmica del extracto etanólico de <i>C</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona” para la prueba de toxicidad.	67
Anexo N: Cortes histológicos, que fueron colocados en envases con formol al 10% para su respectiva lectura en el microscopio.	68

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Taxonomía de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook. ex K. Schum.	4
Tabla 2. Cantidad de ratas utilizadas en la actividad cicatrizante del gel a base del extracto de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona.	16
Tabla 3. Cantidad de ratas utilizadas en la toxicidad dérmica del extracto de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum	17
Tabla 4. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum.	26
Tabla 5. Análisis cualitativo del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum	27
Tabla 6. Evidencia del proceso de cicatrización en el día 1, 7, 14 y 20.	32
Tabla 7. Características en los cortes histológicos de las ratas albinas cepa Holtzman tratados con el extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex. Schum para la evaluación de la toxicidad dérmica.	37
Tabla 8. Resumen de la variación de diámetro de herida en cm. por día.	39
Tabla 9. Contrastación de la Homogeneidad de varianzas por día.	40
Tabla 10. Prueba ANOVA del efecto cicatrizante	41
Tabla 11. Subconjuntos homogéneos de HSD Tukey ^a durante el día 5, 10 y 15.	42
Tabla 12. Prueba de Kruskal Wallis diámetro de herida día 20.	43
Tabla 13. Comparaciones múltiples de Games-Howell en el día 20.	44
Tabla 14. Porcentaje de cierre de herida respecto al grupo control por día (%)	45

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura microscópica de la epidermis.	6
Figura 2. Metodología de la evaluación cicatrizante y toxicidad dérmica del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i>	20
Figura 3. Gráfico de la actividad cicatrizante del extracto etanólico.	22
Figura 4. Gráfico del procedimiento para la evaluación de la Toxicidad dérmica del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex Schum. “capirona” en ratas albinas.	24
Figura 5. Cortes histológicos en rata macho con tres tratamientos diferentes para la evaluación de la actividad cicatrizante (40X).	28
Figura 6. Cortes histológicos en ratas machos con tratamientos con el gel a base de extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum al 2 y 4% para evaluación de la actividad cicatrizante (40X)	29
Figura 7. Cortes histológicos en ratas hembra con tres tratamientos diferentes para la evaluación de la actividad cicatrizante (40X).	30
Figura 8. Cortes histológicos en ratas hembra con tratamientos con el gel a base del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex Schum al 2 y 4% para evaluación de la actividad cicatrizante (40X).	31
Figura 9. Corte histológico del grupo control; rata macho en toxicidad dérmica (40X).	33
Figura 10. Corte histológico del grupo control; rata hembra en toxicidad dérmica (40X).	34
Figura 11. Corte histológico del grupo experimental; rata hembra en toxicidad dérmica (40X).	35

Figura 12. Corte histológico grupo experimental; rata macho en toxicidad dérmica (40X).	36
Figura 13. Evolución del diámetro promedio de herida en cm según tratamiento por día	38
Figura 14. Evolución de la actividad cicatrizante según tratamiento respecto al grupo control por cada día.	46
Figura 15. Actividad cicatrizante durante los días 18, 19 y 20.	47
Figura 16. Los pesos corporales de las ratas hembras durante 14 días.	48
Figura 17. Los pesos corporales de las ratas machos durante 14 días	49

RESUMEN

El uso de las plantas medicinales posee gran importancia para nuevas formulaciones cosmética por su bajo costo cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos. **Objetivo:** Determinar la actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum “Capirona” en ratas. **Materiales y Método:** La especie vegetal, fue recolectada en Pucallpa departamento de Ucayali, Perú. Se realizó una extracción etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum. Se realizó la prueba de solubilidad y análisis cualitativo. En la actividad cicatrizante, se realizó con la técnica de Vaisberg y Col, donde se preparó tres geles a base de la especie vegetal, a concentraciones 1, 2 y 4%, éstas fueron comparados con dos grupos estándares, gel al 10% de (Extracto de cepae; Heparina sódica; Alantoína) “Contratubex” así como un grupo control “Base del gel”. La toxicidad dérmica, se determinó con la técnica de Contero R, Dehesa M, donde se administró una dosis única, por vía oral y dérmica, de 5000 mg/kg del extracto en ratas. **Resultados:** Mediante el análisis cualitativo se determinó que es soluble en agua destilada y presenta metabolitos primarios como azúcares reductores, aminoácidos y metabolitos secundarios como: flavonoides, taninos, compuestos fenólicos con respecto a la actividad cicatrizante demostramos que el gel a concentración de 1% obtuvo mayor eficacia de cicatrización 90% a comparación de los otros grupos; y en la evaluación toxicológica, ninguna rata de la cepa Holtzmann presentó toxicidad dérmica. **Conclusión:** Se determinó que el extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum si presenta actividad cicatrizante en ratas y no posee toxicidad dérmica vía tópica.

Palabras clave: *Calycophyllum spruceanum* (Benth), extracto, cicatrización, toxicidad.

ABSTRACT

The use of medicinal plants is of great importance for new cosmetic formulations due to their low cost, whose active principles can serve as precursors for the synthesis of new drugs. Objective: To determine the healing activity and dermal toxicity of the ethanolic extract of the bark of *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. F. ex Schum "Capirona" in rats. Materials and Method: The plant species was collected in Pucallpa department of Ucayali, Peru. An ethanolic extraction of the bark of *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook was carried out. F. ex Schum. The solubility test and qualitative analysis were carried out. In the healing activity, it was carried out with the Vaisberg and Col technique, where three gels were prepared based on the plant species, at concentrations 1, 2 and 4%, these were compared with two standard groups, 10% gel of (Cepae extract; Heparin sodium; Allantoin) "Contratubex" as well as a control group "Base of the gel". Dermal toxicity was determined with the technique of Contero R, Dehesa M, where a single dose, orally and dermally, of 5000 mg / kg of the extract was administered in rats. Results: Through qualitative analysis it was determined that it is soluble in distilled water and presents primary metabolites such as reducing sugars, amino acids and secondary metabolites such as: flavonoids, tannins, phenolic compounds with respect to healing activity, we demonstrated that the gel at a concentration of 1% obtained 90% greater healing efficiency compared to the other groups; and in the toxicological evaluation, no rats of the Holtzmann strain presented dermal toxicity. Conclusion: It was determined that the ethanolic extract of the bark of *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. F. ex Schum if it has healing activity in rats and does not have dermal toxicity via topical route.

Key words: *Calycophyllum spruceanum* (Benth), extract, cicatrization, toxicity.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han significado a través de la historia una de las principales alternativas en el cuidado de la salud. El Perú está situado dentro de las áreas geográficas consideradas centros de biodiversidad mundial, siendo un país megadiverso en lo que respecta a la existencia de recursos de flora y fauna.¹

El aprovechamiento selectivo generalmente afecta a los mejores ejemplares de la especie, sobreviviendo los de menor calidad para la industria, ocasionando así degradación de las poblaciones naturales; por lo tanto, se han realizado avances en la investigación. Las plantas medicinales de uso tradicional se originaron desde tiempos antiguos: “Los indios del Perú son los primeros naturalistas del mundo, empleando las plantas en la cura de diferentes enfermedades”. Este conocimiento tradicional sobre el uso de plantas medicinales constituye no sólo la base para las investigaciones fitoquímicas sino que se realiza una investigación más amplia para la determinación de compuestos activos provenientes de plantas.²

El 80 % de la población mundial, más de cuatro mil millones de personas, utiliza las plantas como principal remedio medicinal, según la OMS.³ Los medicamentos herbarios contiene como principios activos partes de plantas u otros materiales. El uso está generalmente aceptado y se considera seguro y eficaz. Esto da lugar a los fitofármacos, es apreciado por su costo bajo y por los reducidos índices de toxicidad, en comparación con los productos de síntesis⁴

En general, la corteza de *Calycophyllum spruceanum* se utiliza en la preparación de yesos capaces de curar cortes, heridas y quemaduras. En cosmetología, se utiliza en la preparación de champús para el control de la caída del cabello, así como en la preparación de cremas curativas y humectantes para arrugas, imperfecciones y cicatrices cutáneas⁵

En el Perú, la decocción de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” se utiliza la corteza seca y molina; la mezclan con agua y forma una pasta que se aplica a las heridas con el objeto de prevenir y curar las afecciones en la piel.⁶

En Brasil y en Perú, se puede encontrar las cortezas secas fácilmente en los comerciantes locales de plantas medicinales y la industria cosmética brasileña ha mostrado interés en los efectos beneficiosos de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum contra los trastornos de la piel.⁷

El *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum tienen metabolitos destacados como flavonoides, taninos, triterpenos y algunos alcaloides.⁷ Los compuestos fenólicos tales como los flavonoides, taninos tienen un trabajo vital en el proceso del cierre de una herida. Los taninos favorecerán el proceso de la cicatrización de heridas con la inhibición de los radicales libres, lo cual facilita el cierre el diámetro de la herida, amplía la génesis de nuevos capilares sanguíneos (angiogénesis) y la aparición de fibroblastos. Los taninos y triterpenos, trabajan disminuyendo radicales libres, que promueven el cierre de las heridas por sus características secantes y antibacterianas.⁸

-Situación problemática

El Perú es el quinto país en el mundo en número de plantas medicinales conocidas. El uso de “plantas curativas”, ha ido incrementándose por lo que surge el interés en estudiarlas, pero aun así las investigaciones son pocas y limitadas; por lo tanto, es importante llevar a cabo el estudio toxicológico de estas plantas medicinales.^{5,9}

La transculturación en el Perú ha resultado una pérdida grande en el conocimiento tradicional de las comunidades indígenas y la experiencia de grupos mestizos que han servido de fuentes primarias de información y prácticas en el uso de diversas plantas medicinales.⁹

En poblaciones rurales, el acceso a los medicamentos farmacológicos se torna restringido por múltiples razones, como el traslado a una farmacia, los costos altos, los aspectos culturales, el difícil acceso a centros de salud, entre otros, optando siempre por la medicina herbaria que está a su alcance.⁴

En la Amazonía usan varios tipos de plantas medicinales como la corteza de *Calycophyllum spruceanum* que se utiliza ya en la preparación de cremas curativas artesanales y humectantes para arrugas, imperfecciones y cicatrices cutáneas.⁵ Como un aporte del presente estudio consideramos investigar la actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del gel a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona” y aportar conocimiento experimentales para el mejor tratamiento que contribuya de forma eficaz, rápida y segura.

En este contexto la aplicación de productos tópicos naturales con propiedades cicatrizantes es de gran importancia como es el caso es de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Bent).

- **Formulación del problema**

¿El gel a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” tiene actividad cicatrizante y no presenta toxicidad dérmica?

- **Marco teórico referencial**

Descripción botánica de *Calycophyllum spruceanum* (Benth)

Tiene forma cilíndrico rectilíneo con una altura total de 40 m (La altura comercial es de 25 m) y el diámetro puede alcanzar los 0,90 m. tiene una corteza delgada, dejando al descubierdo una corteza fina de color verde.¹⁰

Taxonomía

Tabla 1. Taxonomía de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum. (Capirona)

División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliosida
Sub clase	Asteridae
Orden	Rubiales
Género	<i>Calycophyllum</i>
Especie	<i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum.

“En la tabla 1 se observa la taxonomía establecida por el Mg. Hamilton Beltrán Santiago, según el sistema de clasificación de croquis (1988). La muestra se identificó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, fue reconocida el 22 de agosto del 2018 como *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum.”

Información etnobotánica y etnomédica

En el alto Amazonas la corteza de este árbol es ampliamente utilizada para varias enfermedades. Entre los indígenas Huarani de la Amazonía ecuatoriana la especie *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum es muy apreciada para el tratamiento de la malaria, empleándose la decocción de la corteza. Los Quichuas del Napo la usan como estimulante; se cree que puede tener unos efectos semejantes a los de la coca.⁷

Composición química

La composición química está relacionado a la edad, especie, parte del árbol, época del año, condición del árbol y localización. Posee compuestos alifáticos, aromáticos, alcoholes, y varios tipos de ácidos, ésteres y compuestos fenólicos, taninos, aceites esenciales, resinas, ceras y algunos alcaloides. También reportaron la presencia de iridoides y seco-iridoides en la corteza de *Calycophyllum spruceanum*. Los flavonoides, azúcares reductores y libres, iridoides, taninos condensados y saponinas son metabolitos cicatrizantes cuya función en las plantas es actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción, como agentes protectores frente al ataque de agentes patógenos.¹¹

Propiedades farmacológicas

Es usado como antiinflamatorio y desinfectante; contra la dermatitis, lesiones fúngicas de la piel y malaria. En el Perú se usa la decocción o infusión de la corteza, el polvo para la aplicación externa.¹¹

La piel

La piel es una membrana fibroelástica, considerada la “envoltura viva del cuerpo”; es un órgano que desempeña una gran gama de funciones que incluyen la protección frente a agresiones externas, la termorregulación, la absorción de radiaciones ultravioleta. Estimula la activación de grupos celulares para la continua remodelación del tejido tanto estímulos químicos y mecánicos que se producen cuando se genera una lesión en la piel y desencadena un proceso de cicatrización que permite restituir las características y funciones del tejido.¹²

Consta de tres capas bien diferenciadas: epidermis, dermis e hipodermis:

Epidermis

Es un epitelio plano poli-estratificado y queratinizado que se caracteriza porque las células más superficiales, llenas de queratina, mueren continuamente y se descaman, para mantener el equilibrio de la estructura, las células más profundas (células madre basales), proliferan y se diferencian continuamente; constituida por dos grupos de células: queratinocitos o células no dendríticas y células dendríticas. Los queratinocitos a su vez se organizan en capas o estratos, que de la más superficial hacia adentro son: ¹³

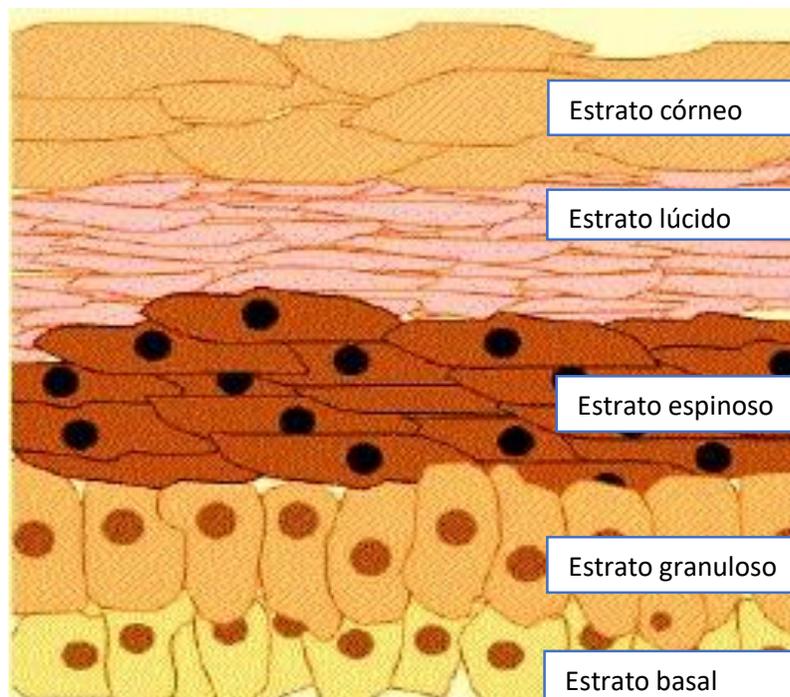


Figura 1. Estructura microscópica de la epidermis. ¹⁴

“En la figura 1 los queratinocitos forman las 5 capas de la epidermis: capa basal, estrato espinoso, estrato granuloso, estrato lúcido y capa córnea. El estrato basal es la más profunda y está constituida por una sola capa de células cuboidales. Por encima de la capa granulosa se encuentra la capa córnea en la que las células han perdido el núcleo y conforman la blanda. Se denomina estrato lúcido”.¹⁴

Dermis

La dermis está separada de la epidermis por una membrana basal. Se describen dos zonas: la externa denominada estrato esponjoso que se caracteriza por tejido conjuntivo areolar y contiene glándulas mucosas, glándulas serosas (granulares) y cromatóforos, y el estrato compacto que se encuentra inmediatamente debajo y es predominante colágenos, pudiendo las glándulas serosas proyectarse dentro de esta zona.¹³

Hipodermis

Bajo la dermis nos encontramos con la hipodermis, también llamada tejido subcutáneo o panículo adiposo. Está formada principalmente por células adiposas rodeadas por tejido conectivo laxo y presenta distinto grosor dependiendo de la zona del cuerpo que consideremos.

Los pelos crecen en invaginaciones epidérmicas especializadas denominadas folículos pilosos, con distribución desigual por el cuerpo. Asociadas a los folículos pilosos se encuentran las glándulas sebáceas y las sudoríparas de tipo apocrino.¹⁴

La cicatrización

Se trata de un proceso biológico diseñado para una correcta curación la proliferación y diferenciación se liberan en el entorno extracelular a través de respuestas e interacciones celulares mediadas por citocinas. Las etapas de curación se dividen en inflamación, proliferación y maduración.¹⁶

○ Fase inflamatoria

Su inicio es a los 16' y presenta una duración de hasta 6 días; genera una respuesta protectora e intenta destruir o aislar aquellos agentes que representen peligro para el tejido, ya que sin dicha remoción de las células afectadas no se dará inicio a la formación de nuevo tejido mediante la activación de queratinocitos y fibroblastos.⁷

- **Fase de proliferación**

Su objetivo es generar una barrera protectora, para aumentar los procesos regenerativos y evitar el ingreso de agentes nocivos; se caracteriza por la activación de dos grandes procesos: angiogénesis y migración de fibroblastos, los cuales facilitan la formación de una matriz extracelular (MEC) provisional. La angiogénesis es un proceso necesario para restaurar el flujo sanguíneo.¹⁷

- **Maduración**

Esta fase se caracteriza por la formación, organización y resistencia que obtiene el tejido al formar la cicatriz, lo cual se obtiene de la contracción de la herida generada por los miofibroblastos y la organización de los paquetes de colágeno.⁷

Tipos de cicatrización

Existen 2 maneras de cicatrización según el período y la forma en que ésta ocurra:

- 1) Cicatrización primaria o por primera intención**

Se consideran agudos y tienden a curarse por primera intención, poseen tendencia a la regresión espontánea y se termina en plazo corto.¹⁸

- 2) Cicatrización por segunda intención**

En ausencia de aproximación de los bordes, la cicatrización de estas heridas quirúrgicas se produce con una segunda intención, ya que existen espacios entre los bordes y requiere una formación significativa de tejido de granulación para rellenar hasta que se produzca la contracción y epitelización. Este proceso es lento formándose el tejido de granulación y cicatricial.¹⁹

Toxicidad aguda

La toxicidad aguda describe los efectos adversos que son el resultado de una sola exposición a una sustancia, por esto difiere de la toxicidad crónica que describe la acción tóxica de la sustancia en exposiciones repetidas en un periodo de tiempo más largo (meses a años).²⁰

La frecuencia de exposición se refiere al número o el tiempo en el cual una persona o animal es expuesta y el tiempo entre las exposiciones. Típicamente las exposiciones pueden ser clasificadas según la duración de la exposición. La duración de la exposición puede ser aguda, subcrónica y crónica.²¹

- Estudios antecedentes

Antecedentes internacionales

Martínez A. (2016), realizó “La obtención y caracterización de extracto etanólico de *Hamelia patens Jacq* para aplicación tópica.” **Objetivo:** Obtener y caracterizar de un extracto etanólico de *Hamelia patens Jacq.*, para aplicación tópica. **Metodología:** Se elaboró una ficha técnica con información actualizada de *Hamelia patens Jacq*, que contiene la siguiente información: uso etnomédico, estudios preclínicos y clínicos farmacológicos de que demuestran la actividad de la planta como antiinflamatorio, antimicrobiano, cicatrizante y analgésico; para lo cual, se revisaron las bases de revistas científicas: Hinari, Ebc, High Wire, Scielo y Latindex donde se encontraron 25 referencias, 6 resúmenes de artículos. **Resultados:** Durante el tamizaje fitoquímico, se produjeron cromatos de placa fina que muestran la pigmentación peculiar de los flavonoides y cumarinas. La presencia de flavonoides, antocianinas, esteroides o triterpenoides se determina mediante pruebas de tinción química que presento los estudios. **Conclusiones:** La caracterización fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Hamelia patens Jacq* demostró la presencia de flavonoides, esteroides, alcaloides y cumarinas.²²

Santos AB, et al. (2016), realizaron una investigación en Brasil sobre “Estudio de la botánica, etnofarmacología y la química de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum.” **Objetivo:** Detallar aspectos botánicos, etnofarmacológicos y propiedades químicas del *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum. **Metodología:** Las bases de datos utilizadas eran Google Académico, Science Direct, Pubmed, Web de conocimientos y CAPES Diario. El período de búsqueda comprendió los años entre 1945-2015. **Resultados:** El *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum se produce en toda la región amazónica, incluyendo Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador y Perú. Los metabolitos encontrados son taninos y fenoles. La cascara de la corteza se utiliza como emplastos capaces de curar cortes, heridas y quemaduras. En la prueba de DPPH, el extracto etanólico posee actividad antioxidante 11,7% superior al extracto acuoso y en el ensayo ABTS el extracto de etanol tiene actividad protectora superior a 8,3% sobre el extracto acuoso. Los secoxiloganino, secoiridoides y diderrosideo aislados del extracto etanólico de la corteza *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum tienen antitripanosoma actividad. **Conclusión:** Se demostró que el *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum por lo general se encuentra a lo largo del río Amazonas presenta secoiridoides y en los extractos alcohólicos presentan mejor desempeño de extracción de compuestos antioxidantes, utilizada en cremas para manchas de la piel y cicatrices.⁵

Cevallos D, et al. (2017), realizaron una investigación en Venezuela “Composición química, actividad cicatrizante y toxicidad del látex de *Croton Lechleri*. **Objetivo:** Determinar el efecto cicatrizante y toxicidad del gel elaborado del látex de *Croton Lechleri* **Metodología:** El período de observación de la actividad cicatrizante fue de 7 días y para la toxicidad 14 días. De las observaciones clínicas, las heridas con los grupos tratados con el látex de *Croton Lechleri* revelaron signos considerables de la cicatrización dérmica y curaron significativamente más rápido, comparado con los grupos cuyos procesos de cicatrización ocurrieron sin tratamiento y con la crema

comercial. **Resultados:** De las observaciones clínicas mostraron las heridas con los grupos tratados con el látex de *Croton Lechleri* revelaron signos considerables de la cicatrización dérmica y curaron significativamente más rápido. Del análisis de los cortes histopatológicos en general, las heridas de las ratas sin tratamientos y con la crema comercial revelaron abscesos con granulomas inflamatorios, mientras las pieles de las tratadas con el látex exhibieron signos de reparación, determinándose su efectividad como cicatrizante. De la evaluación de la toxicidad aguda dérmica, el látex no ocasionó muertes, ni signos de toxicidad en los animales a la dosis de 2000 mg/kg, las ratas mantuvieron un incremento de peso corporal. **Conclusión:** El látex de *Euphorbiaceae* (Sangre de Drago) tiene efecto cicatrizante y no tiene evidencia de toxicidad aguda dérmica.²³

Morales D. (2018), realizó una investigación en El Salvador acerca de la toxicidad subaguda del extracto acuoso de hojas de *chichipince Hamelia patens Jacq (Rubiaceae)* en ratones cepa NIH de laboratorio. **Objetivo:** Evaluar mediante ensayos de toxicidad subaguda por 28 días por vía oral, utilizando dos dosis de T1: 100 y T2: 200 mg/kg de peso vivo para ambos sexos de *chichipince Hamelia patens Jacq (Rubiaceae)*. **Metodología:** Los métodos empleados fueron los descritos por la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OECD). Se evaluó los Parámetros Clínicos, Pesos corporales, Hematología, Química Sanguínea, Pesos y Tallas de órganos. **Resultados:** Fueron analizados con el programa estadístico SPSS 21. Son presentados con sus Medias (X), aumentos porcentuales para pesos vivos (%), desviación estándar (XS), Significancia Bilateral (P valor) cuando ($P < 0.05$). Los pesos corporales mostraron tendencia al incremento en sus promedios semanales y la comparación entre aumentos porcentuales entre grupos tratamientos y su control presentaron diferencias estadísticas significativas para ambos sexos. **Conclusión:** Se demostró que el extracto acuoso de *Hamelia patens Jacq* por vía oral por 28 días en ratones de ambos sexo , no presentó signos de

toxicidad ni disminución en el peso corporal en los ratones en ambos sexos.²⁴

Antecedentes nacionales

Cardenas T, Fernández J. (2017), realizaron “La actividad toxicológica de pomada Dermoimet en ratas albinas cepa Holtzman, según modelo de irritación y toxicidad aguda cutánea. **Objetivo:** Evaluar el efecto toxicológico de pomada DERMOIMET en ratas albinas cepa Holtzman, según modelo de irritación y toxicidad aguda cutánea. **Metodología:** Hay dos grupos experimentales para determinar la probabilidad de irritación cutánea aguda (OECD 404) a los cuales se le ha aplicado la pomada Dermoimet, sobre la piel. En la toxicidad aguda dérmica cutánea (OECD 427) Se aplicó la pomada Dermoimet tópica una vez y se observó el área tratada durante los 14 días consecutivos. la zona tratada durante 14 días consecutivos. **Resultados:** Los ratones fueron sacrificados por dislocación para estudio histopatológico de muestras de piel recolectadas al final de cada estudio. En el examen macroscópico luego de aplicar la pomada Dermoimet no se evidenció signos ni síntomas de irritación y toxicidad aguda cutánea (OECD 404 y OECD 427 respectivamente). Se obtuvo un índice 0,20 de irritación primaria y de 0,05 para toxicidad aguda cutánea, considerándose ambos resultados como insignificante. **Conclusión:** La pomada Dermoimet o cera de abeja no provoca irritación en piel, pero presenta una leve hiperqueratosis en ratas albinas cepa Holtzmann.²⁵

Cueva R. (2017), realizó una investigación acerca del “Efecto cicatrizante del ungüento de *Dodonaea viscosa Jacq.* “Chamisa” en ratones Balb/C53”. **Objetivos:** Determinar el efecto cicatrizante del ungüento a base de extracto etanólico de las hojas de *Dodonaea viscosa Jacq.* “Chamisa”, en ratones Balbi/c53 y determinar la concentración adecuada del ungüento a base de extracto etanólico de las hojas de *Dodonaea viscosa Jacq.* “Chamisa” y detectar si los metabolitos secundarios participan en forma conjunta en el efecto

cicatrizante. **Metodología:** Se realizó un estudio tipo experimental, de nivel aplicativo, con siete grupos en total y una muestra de 56 ratones Balb/C53. Se aplicó el método tensiométrico (Vaisberg) , el análisis del test de cicatrización se realizó mediante instrumentos de recolección de datos y finalmente, se utilizó el programa estadístico SPSS 24. **Resultados:** Se observó la variabilidad de las diferencias que existen entre los grupos de control y los tres tratamientos de concentración de Chamisa. **Conclusión.** Se determinó que el ungüento del extracto etanólico de *Dodonaea viscosa Jacq.* “Chamisa” al 10% presenta actividad cicatrizante en un 75,42%. Se comprobó que el ungüento de *Dodonaea viscosa Jacq.* “Chamisa” 10%, tiene un mayor porcentaje de cicatrización en comparación con el control positivo, ungüento de *Croton lechleri* “Sangre de Drago” 10% (54,91% del test de cicatrización).La marcha fitoquímica detectada en el extracto etanólico de las hojas de *Dodonaea viscosa Jacq.* “Chamisa” contiene: Compuestos Fenólicos, Flavonoides, Alcaloides y Taninos.²⁶

Mango E, Durand J. (2018), realizo la “Obtención de polifenoles de hojas de *Genipa americana* (jagua) y evaluación de su actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos”. **Objetivo:** Encontrar los tipos de polifenoles presentes en la hoja y evaluar la actividad antibacteriana In vitro del extracto etanólico de hojas de *Genipa americana* (jagua). **Metodología:** Difusión de Disco en agar, en cultivos microbiológicos. Se cultivó bacterias Gram positivas y Gram negativas, como muestra se usó el extracto de hojas de *Genipa americana* (jagua) con 3 tratamientos y 3 repeticiones. **Resultados:** Se encontraron varios tipos de flavonas que son compuestos polifenólicos que tendrían actividad biológica como antiinflamatoria, cicatrizante. **Conclusión:** El extracto de las hojas de *Genipa americana* no posee actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos.²⁷

- **Importancia y justificación de la investigación**

El presente trabajo de investigación se justifica en los siguientes aspectos:

1. **Salud:** Contribuirá como alternativa a los productos farmacéuticos, como gel cicatrizante que evitará (faltaba el acento) la aparición de futuras reacciones adversas. Así como para mejorar la seguridad de los pacientes y tener la capacidad y la calidad de captar la información más completa posible sobre las reacciones adversas y errores de medicación.
2. **Económico:** Permitirá utilizar los recursos vegetales de la Amazonia Peruana como tratamiento alternativo, y que además pueda ser accesible para la población comparados con un fármaco convencional.
3. **Social:** Contribuirá a mejorar la calidad de vida de la población al promover una alternativa terapéutica para la elaboración de crema y gel. A través de las cuales desarrollará y fortalecerá el conocimiento técnico en el uso de gel y las habilidades para su aplicación, con el fin de mejorar la seguridad en su utilización.

- **Objetivo del estudio**

Objetivo general

Comprobar la actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del gel a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” en ratas albinas cepa Holtzman

Objetivos específicos:

1. Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum.
2. Comprobar la actividad cicatrizante del gel al 1, 2 y 4% a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum en ratas albinas Holtzman.
3. Determinar la toxicidad dérmica en ratas tratadas extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum.

- Hipótesis

Ho: El extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona”, tiene actividad cicatrizante.

Ho: El extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona”, no tiene toxicidad dérmica.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño

La presente investigación utilizó un diseño experimental porque se trabajó con grupos y concentraciones diferentes de la variable independiente, por otro lado, según su alcance de sus resultados fue prospectivo por que se trabajó con una hipótesis hacia el futuro. Según su enfoque fue transversal por que se hicieron mediciones observando diferentes variables en un determinado tiempo.

2.2. Población, muestra y muestreo (criterios de inclusión y exclusión)

2.1.1. Población y Muestra

La población se conformó por 40 ratas albinas de cepa Holtzman con peso aproximado entre (200g – 250 g). Las cuales son 20 hembras y 20 machos provenientes del Instituto Nacional de Salud (INS).

Se emplearon aprox.12 kg de corteza, *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” que fueron recolectadas en Pucallpa, Ucayali – Perú.

Tabla 2. Cantidad de ratas utilizadas en la actividad cicatrizante del gel a base del extracto de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona”.

Actividad cicatrizante									
1 ^{er} (blanco)		2 ^{do} (Contratubex)		3 ^{er} (capirona 1%)		4 ^{to} (capirona 2%)		5 ^{to} (capirona 4%)	
5 ratas hembr a	5 ratas macho	5 ratas hembr a	5 ratas macho	5 ratas hembr a	5 ratas macho	5 ratas hembr	5 ratas macho	5 ratas hembr	5 ratas macho

“En la tabla 2 se observa la cantidad de animales utilizados en el diseño experimental para determinar si presenta actividad cicatrizante”

Tabla 3. Cantidad de ratas utilizadas en la toxicidad dérmica del extracto de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona”.

Toxicidad dérmica			
1 ^{er} (blanco)	2 ^{do} (blanco)	3 ^{er} (capirona)	4 ^{to} (capirona)
2 ratas hembra	2 ratas macho	10 ratas hembra	10 ratas macho

“En la tabla 3 se observa la cantidad de animales utilizados en el diseño experimental para la determinar si presenta toxicidad dérmica”

2.1.2. Muestreo

El muestreo fue no probabilístico debido a que es un estudio preclínico. Determinados por criterios de inclusión y exclusión. Los cuales se detallan a continuación:

2.1.2.1. Criterios de inclusión:

- Ratas albinas cepa Holtzman de ambos sexos con peso corporal entre 200 g – 250 g.
- Ratas albinas cepa Holtzman sanas y aclimatadas por 7 días.
- 20 ratas albinas hembra cepa Holtzman sanas y sin heridas.
- 20 ratas albinas macho cepa Holtzman sanas y sin heridas.
- Muestra vegetal perteneciente a la provincia de Pucallpa – Ucayali.
- Preparación del gel al 1, 2 y 4%

2.1.2.2. Criterios de exclusión:

- Ratas albinas cepa Holtzman de ambos sexos que no tuvieron el peso corporal entre 200 - 250 g.

- 25 ratas albinas macho cepa Holtzman con patologías.
- 25 ratas albinas hembra cepa Holtzman con patologías.
- Muestra vegetal no perteneciente a la provincia de Pucallpa – Ucayali.
- Preparación de gel en concentraciones mayor al 4%

2.3. Variables de estudio general

- **Variables dependientes:** Actividad cicatrizante y toxicidad dérmica.
- **Variable independiente:** Extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona”.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica que se empleó para el recojo de información fue la observación, de forma directa donde se registró en fichas de recolección las longitudes de cicatrización en cm y las características histopatológicas que se observaron por fotografías para detectar los cambios a nivel la piel.

2.5. Proceso de recolección de datos

a) Preparación del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum “Capirona”

Se procedió a seleccionar corteza fresca de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum (Ucayali-Perú), se obtuvo 5 Kg; luego se secó a temperatura ambiente durante 7 días.

Utilizando el molino de semilla se pulverizó la corteza de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum, luego paso por tamizaje con diámetros de 60 mm, con la finalidad de incrementar la extracción de metabolitos durante su contacto con los solventes.

Para realizar la maceración se utilizó 1 Kg de corteza seca molida; se elaboró

con 5 L de alcohol de 70° en un recipiente herméticamente cerrado capacidad para 10 L durante 7 días con agitación diaria asimismo se aisló de la luz; luego se utilizó embudo de vidrio y papel filtro para realizar filtración del extracto etanólico este volumen obtenido es depositado en un envase color ámbar y se llevó a la estufa a 40 °C hasta obtener el extracto seco.^{28, 29}

b) Prueba de solubilidad

Para realizar la prueba de solubilidad se utilizó solventes de diferentes polaridades con el fin de determinar la solubilidad del extracto. La prueba se realizó colocando 20 mg del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum, en cada prueba de solubilidad luego se agregó 1 mL de los solventes utilizados como: Agua destilada, etanol, metanol, butanol, acetona, n - hexano, acetato de etilo, benceno, éter etílico.³⁰

c) Análisis cualitativo

Este análisis cualitativo sirve para detectar la presencia de metabolitos primarios y secundarios. Se solubilizó el extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum “capirona”, en agua destilada. Seguidamente, se agregó 1 mL de muestra vegetal y gotas de cada reactivo en su respectivo tubo de ensayo rotulado para determinar metabolitos como: flavonoides, saponina, alcaloides, taninos y compuestos fenólicos.³

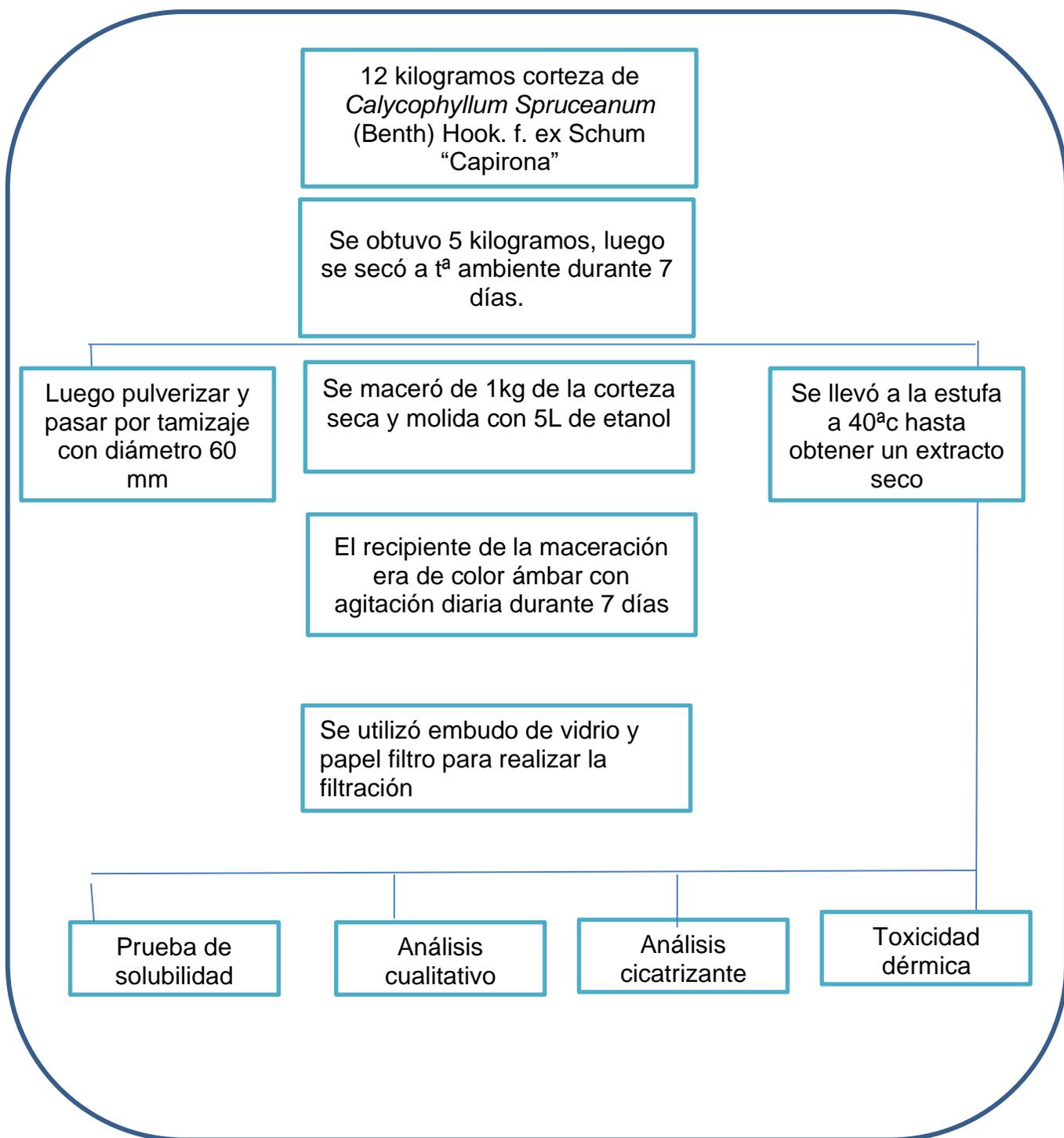


Figura 2. Metodología de la evaluación cicatrizante y toxicidad dérmica del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona”.

d) Preparación de los geles a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona”

GEL BASE	
Carbopol 2% (gelificante)	0.75 g
Propilenglicol 5% (humectante)	2,5 mL
Água destilada	50 mL
Nipagin 0,3%	0.1 g
Trietanolamia	csp.

-Procedimiento

En un vaso precipitado se añadió 50 mL de agua destilada, luego se pesó el carbopol 0,75 g, se agitó con una varilla de vidrio con el objetivo de homogenizar el hidrogel hasta que desaparezca los grumos, luego se agregó propilenglicol 2,5 mL, agitamos hasta eliminar las burbujas se dejó en reposo, luego se agregó trietanolamina con movimientos lentos sin generar espuma, después se agregó nipagin como conservador y por último agregamos el extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum al 1, 2 y 4% para la elaboración de cada gel.

e) Determinación del efecto cicatrizante

Los animales de experimentación fueron anestesiados con pentobarbital (40 mg/ kg) luego se realizó las incisiones en el dorso de cada uno de ellos, previamente depilados 24 horas antes del ensayo siguiendo el método descrito por Nayak y col, 2005.

Luego se procedió a la medición del diámetro cicatrizado con cinta métrica durante los 21 días. Para los resultados en el efecto cicatrizante se evaluó mediante el porcentaje de cicatrización de los tratamientos favorecen la cicatrización de las ratas la cual se calculó con la siguiente formula:

$$\% \text{Cicatrización} = \frac{(\text{Cicatrización del grupo control} - \text{Cicatrización del extracto}) \times 100}{\text{Cicatrización del grupo control}}$$

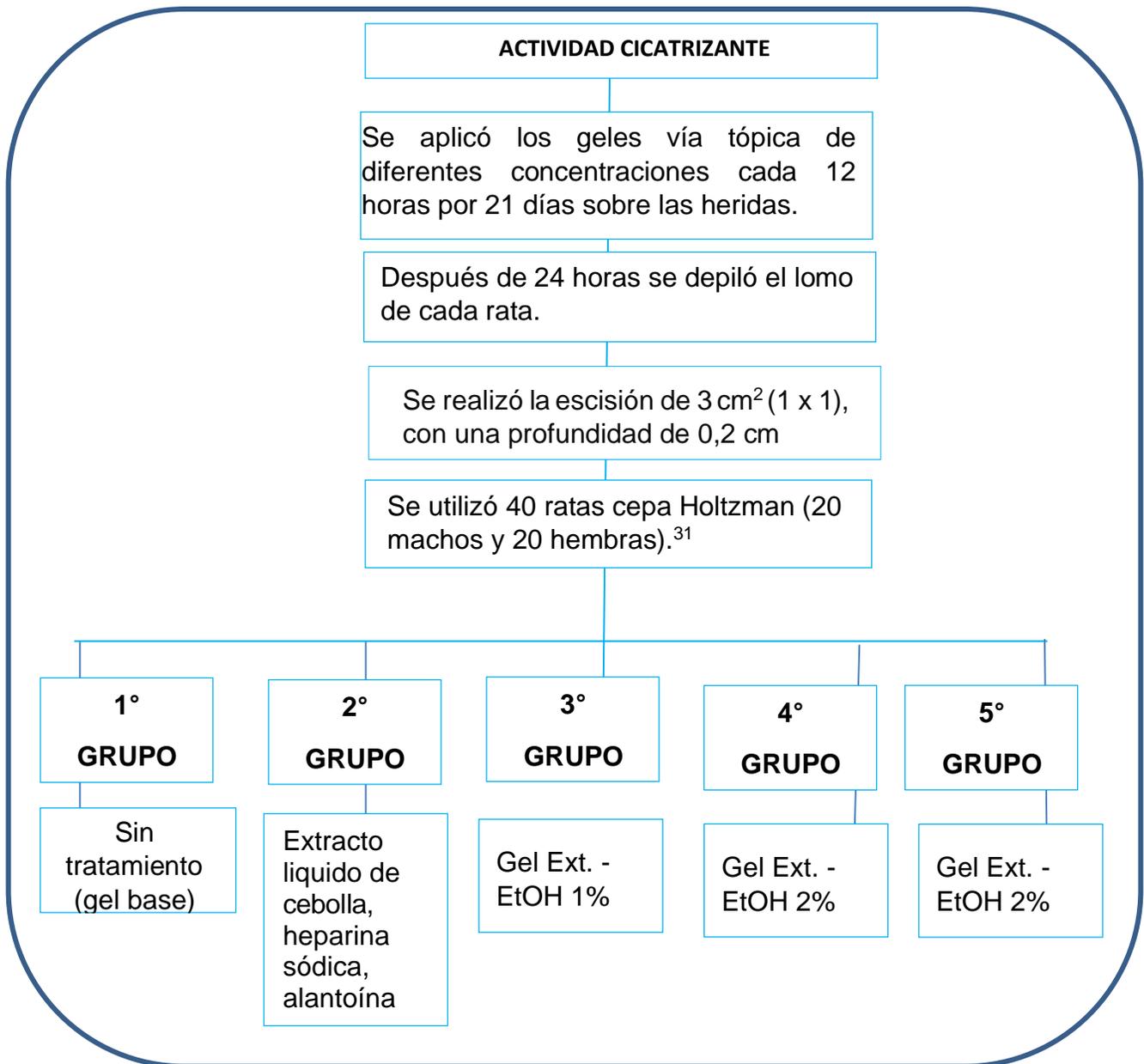


Figura 3. Gráfico de la actividad cicatrizante del extracto etanólico de corteza de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona”.

Luego se marcó el área de la escisión de aproximadamente 3 cm². (1X1). Se procedió cortes con una cuchilla de bisturí de acero inoxidable y tijeras estériles en cada lomo del animal (nivel subcutáneo). Posteriormente se realizó el tratamiento con la aplicación diaria cada 12 horas de las muestras en sus diferentes concentraciones sobre las heridas expuestas. Los volúmenes se asociaron a las dosificaciones del tratamiento, que en este caso fueron de 0,5, 0,25 y 0,125 mL. De acuerdo a los grupos formados para el ensayo se aplicaron los tratamientos tópicamente por un periodo de 20 días. El ensayo comprendió un total de cinco grupos de experimentación, estos son:²¹

- 1^{er} grupo: Sin tratamiento (Control negativo).
- 2^{do} grupo: Extracto de cepae 10,00 g; Heparina sódica 0,04g ; Alantoína 1,00 g Con gel (Contratubex® gel 10 g)
- 3^{ro} grupo: Gel Ext - EtOH 1%
- 4^{to} grupo: Gel Ext - EtOH 2%
- 5^{to} grupo: Gel Ext - EtOH 4%

f) Toxicidad dérmica en el lomo de las ratas

En el ensayo de toxicidad aguda dérmica (TAD) según la propuesta a nueva guía 434 de la OECD³² se trabajó en 10 ratas de cepa Holtzman, de ambos sexos, de 200g – 250 g de peso corporal; fueron agrupadas en dos grupos de cinco y dos blancos. Se usará la técnica de toxicidad dérmica modificada por Contero, Dehesa M, en un cuadrante de 4 x 4 cm en el dorso de cada rata se aplicará el extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum.

Luego se aplica una dosis máxima de 5000 mg / kg por vía oral y tópica en el cuadrante posterior del animal. Cubra con una gasa y selle con un apósito estéril para una absorción completa. Después de h, se retiró la gasa y se observó a los animales durante el tiempo restante. Por 14 días fueron observados el 1^{er}, 7^{mo} y 14^{vo} día se pesaron las ratas para llevar a cabo los controles de sus pesos corporales.

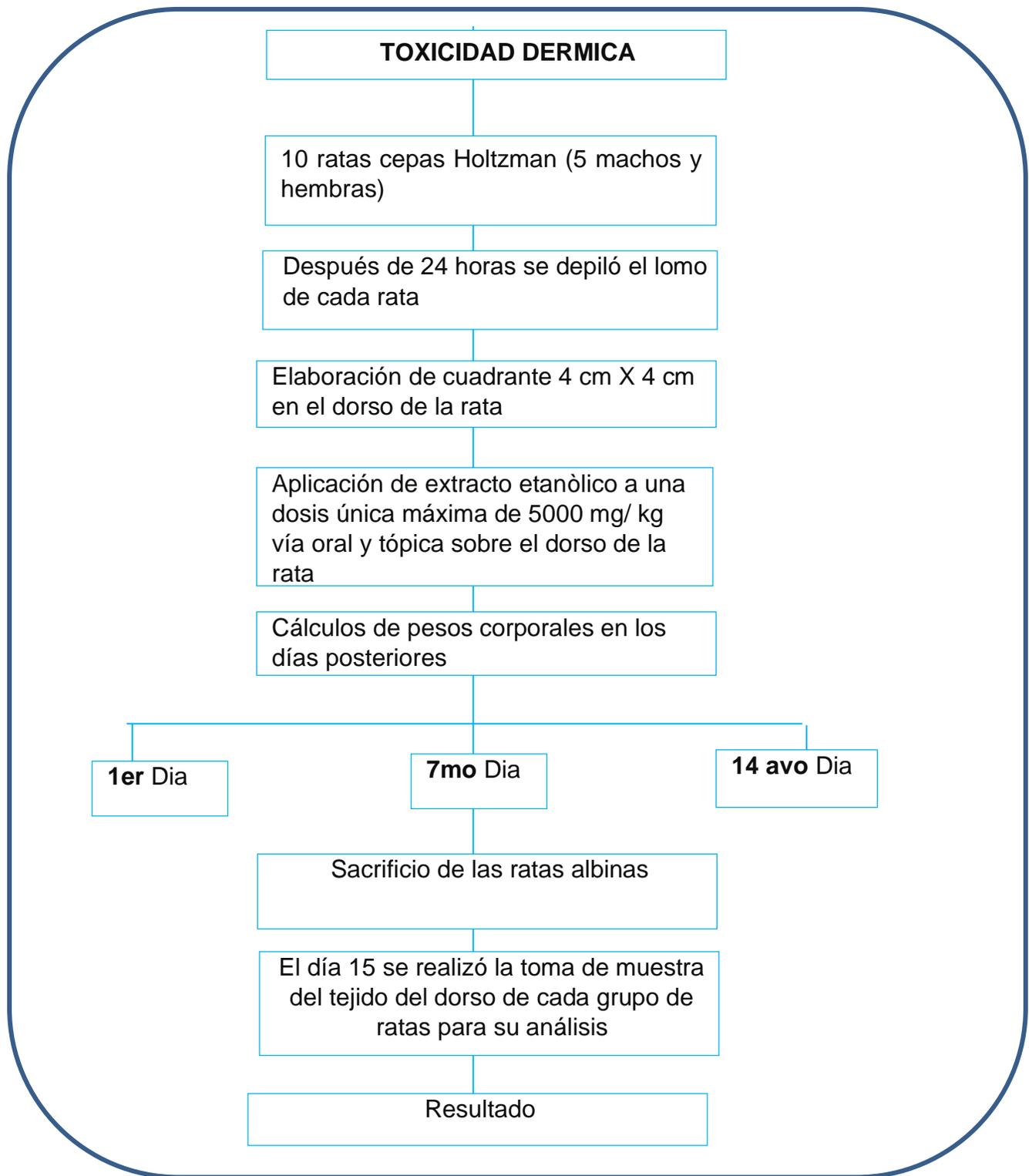


Figura 4. Gráfico del procedimiento para la evaluación de la Toxicidad dérmica del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” en ratas Holtzman.

2.6. Métodos de análisis estadístico

En los grupos con tratamiento con gel a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” presentan diferente disminución del área de cierre (hembras y machos); esto se obtuvo aplicando el estadístico de ANOVA (Análisis de Varianza), disponibles en el programa estadístico SPSS 24.0, para saber si las dosis ensayadas tuvieron efecto cicatrizante de cierre en la herida en sus tres concentraciones al 1% , 2% y 4% durante los 21 días de aplicación en las ratas . Las diferentes medidas de cierre se expresan en porcentajes a partir del control positivo con “Contratubex”. Estos porcentajes son representados en gráficos de barras. Se trabajó a un nivel de confianza del 95%, por eso nuestro P (probabilístico) debe de ser menor al 0,05 (5%).

La medición de las variables cualitativas se efectuó a través de las imágenes de la piel cicatrizante de las ratas y sus pesos, haciendo uso del programa informático Excel, Window 10, año 2013. Los análisis de datos se efectuaron progresivamente, al término de cada resultado obtenido u observación efectuada.

2.7. Aspectos bioéticos

Se realizó una investigación apoyando los principios de las tres erres; reducir, reemplazar y refinar para minimizar el sufrimiento animal. Garantiza la calidad y validez de la investigación, y promueve una conciencia más respetuosa del investigador.²⁸

Este proyecto se ajusta a los principios que rigen la actividad investigadora de la Universidad, la misma que está contemplada en el Código de Ética para la Investigación, setiembre 2019-V02.1/13. Capítulo III. Artículo N°6 (principios: a, c, e, f, g).

III. RESULTADOS

3.1 Prueba de solubilidad

Tabla 4. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.

Solventes	Nomenclatura	Resultado
Agua Destilada	H ₂ O	+
Etanol	EtOH	+
Metanol	MeOH	+
Butanol	BuOH	-
Acetato de Etilo	EtOAc	-
Cloroformo	CHCl ₃	-
Hexano	Hex	-
Acetona	Me ₂ CO	-
Benceno	Bz	-
Éter Etílico	Et ₂ O	-
Éter de Petróleo	EP	-

Leyenda: (+) soluble, (-) insoluble

“En la tabla 4 se observa de los datos recolectados que el extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”, es soluble en solventes polares como: Agua destilada, etanol y metanol.

3.2. Análisis cualitativo

Para la identificación de metabolitos secundarios del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona” se utilizó los siguientes reactivos.

Tabla 5. Análisis cualitativo del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.

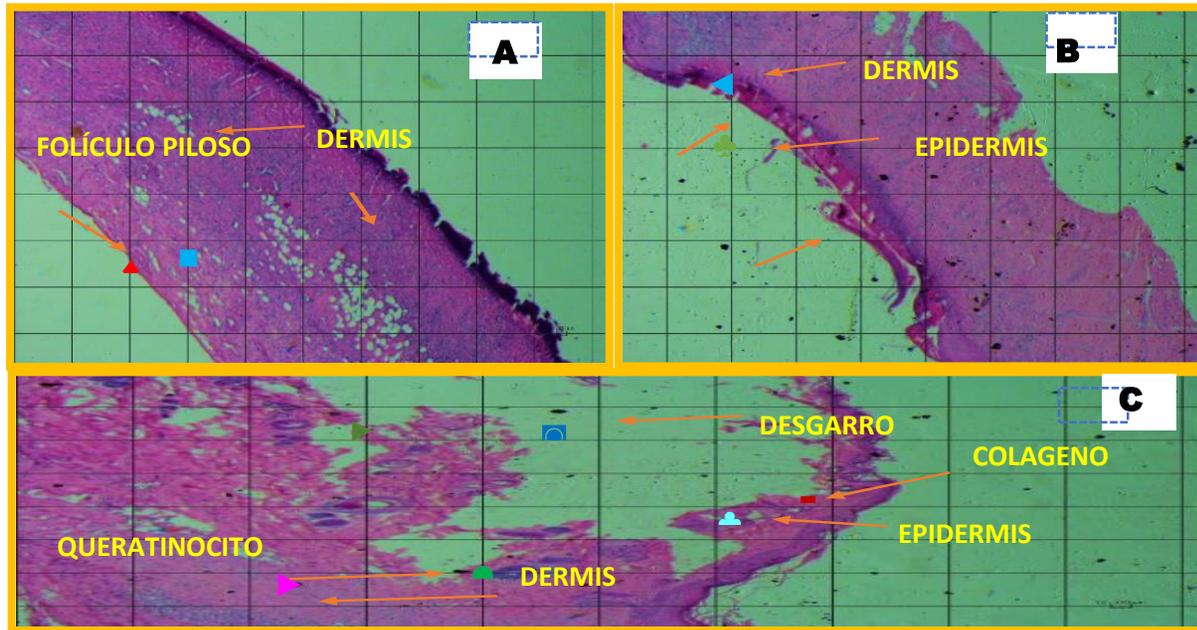
Reactivo	AlCl ₃	Shinoda	FeCl ₃	Gelatina – NaOH 1%	Dragendorff	Mayer
Metabolitos	Flavonoides	Flavonoides	Compuestos fenólicos	Taninos	Alcaloides	Alcaloides
Resultado	+	+	+	+	-	-

Reactivo	Popoff	Wagner	Sonnenschein	Ninhidrina 1%	Liebermann – Burchard	Salkowski	Molish
Metabolitos	Alcaloides	Alcaloides	Alcaloides	Grupo amino libre	Triterpenos y/o esteroide	Esteroides	Carbohidrato
Resultado	-	-	-	+	+	+	+

Leyenda: Presencia (+), Ausencia (-)

“En la tabla 5 se determinó la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos, esteroides, Triterpenos; presencia de grupo amino libre y carbohidratos.”

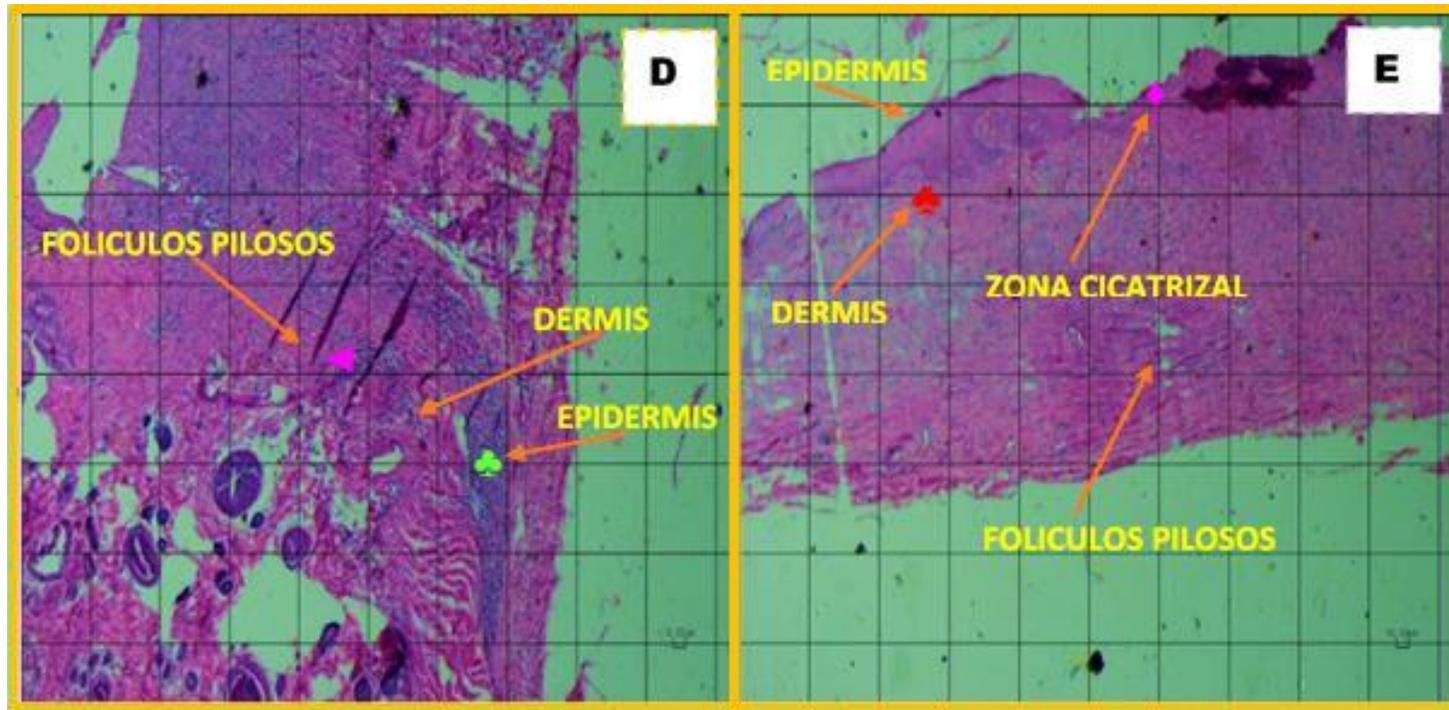
3.3. Efecto cicatrizante



Leyenda: (A) Blanco, (B) Ext OH 1% y (C) Extracto líquido de cebolla; Heparina sódica; Alantoína (Contratubex)

Figura 5. Cortes histológicos en ratas machos con tres tratamientos diferentes para la evaluación de la actividad cicatrizante (40X).

En la figura 5 se observa en (A) presenta folículos pilosos escasos, piel completa con tejido conjuntivo, epidermis y dermis (B) epidermis cicatrizante (C) Desgarro en la piel, tejido conjuntivo incompleto escasa, no presenta cicatrización.



Leyenda: (D) Ext OH 2%, (E) Ext OH 4%

Figura 6. Cortes histológicos en ratas machos con tratamientos con el gel a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex. Schum al 2 y 4% para evaluación de la actividad cicatrizante (40X).

“En la figura 6 se observa que en (D) La piel esta con folículos pilosos por arrancamiento, piel completa con tejido conjuntivo; (E) La piel adelgazó completamente en la zona cicatrizal central. En las dos imágenes presenta cicatrización.

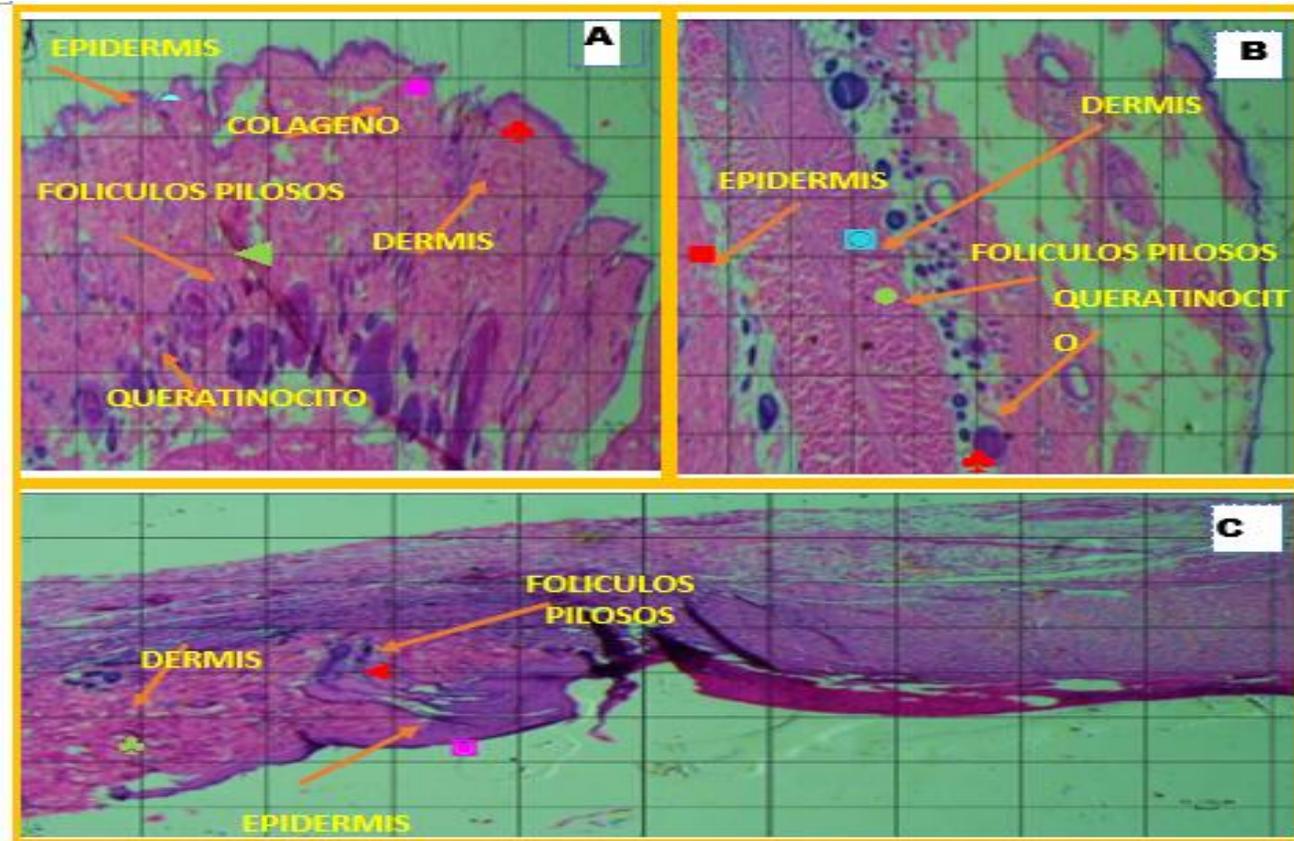
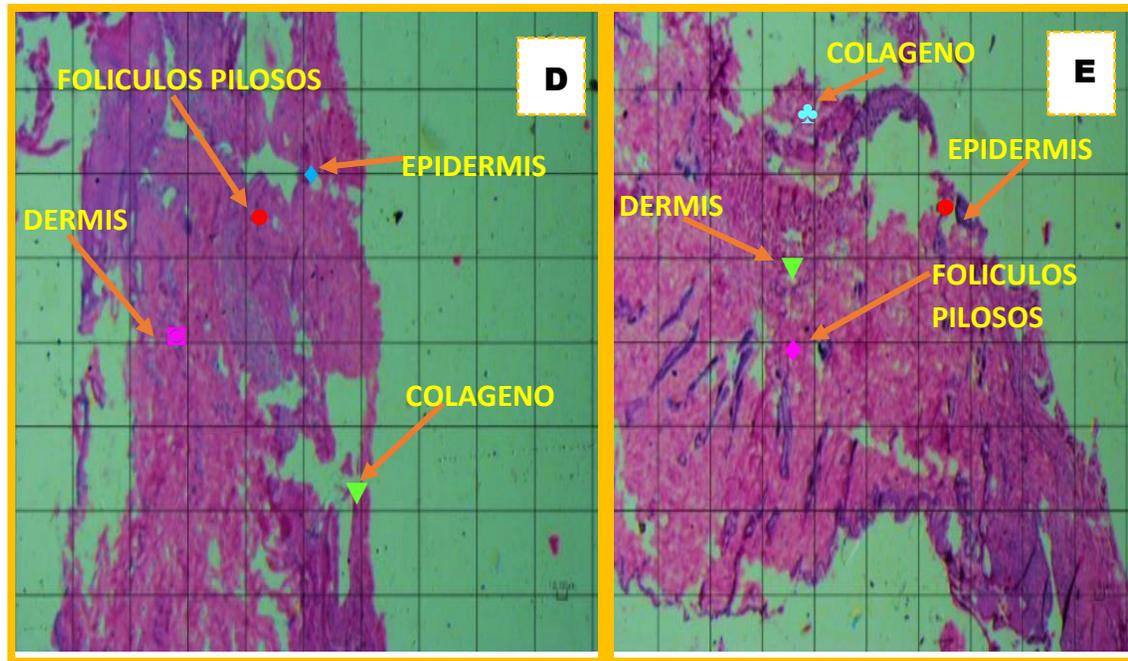


Figura 7. Cortes histológicos en ratas hembra con tres tratamientos diferentes para la evaluación de la actividad cicatrizante (40X).

“En la figura 7 se observa cicatrización tanto en (A) los folículos pilosos centrales con revestimiento de piel, (B) Tiene piel doble con folículos centrales medios, (C) Presenta zona central de cicatrización con folículos centrales.”

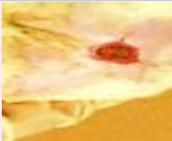


Leyenda: (D) Ext OH 2%, (E) Ext OH 4%

Figura 8. Cortes histológicos en ratas hembra con tratamientos con el gel a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex Schum al 2 y 4% para evaluación de la actividad cicatrizante (40X).

“En la figura 8 se observa cicatrización en ambas imágenes **(D)** la presencia de tejido conjuntivo y colágeno; no hay casi folículos pilosos y en **(E)** los folículos centrales, en la epidermis se puede observar pequeñas fibras de colágeno.

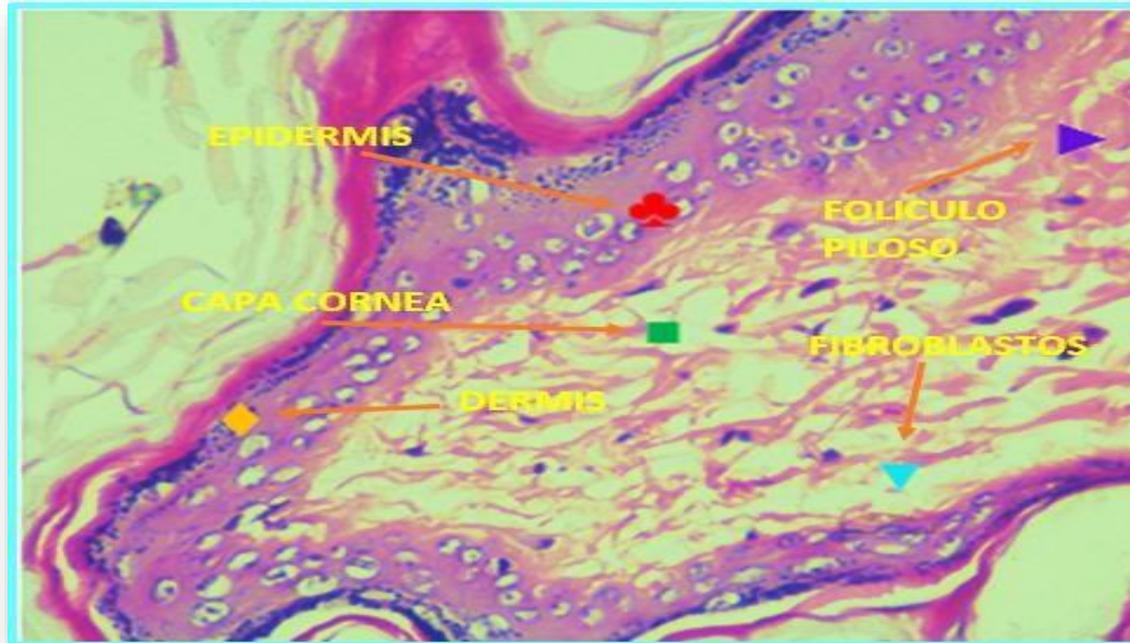
Tabla 6. Evidencia del proceso de cicatrización en el día 1, 7, 14 y 20 en ratas hembras y machos

TRATAMIENTO	DÍAS DE TRATAMIENTO			
	DÍA 1	DÍA 7	DÍA 14	DÍA 20
CONTROL				
CONTRATUBEX				
CAPIRONA 1 %				
CAPIRONA 2 %				
CAPIRONA 4 %				

“En la tabla 6 se observa desde el primer día una herida prominente con los cinco grupos de tratamiento. Al séptimo día del tratamiento del grupo tratado mostró cierto grado de humedad en heridas aleatorias, a diferencia del día 14 y 20 se observa un porcentaje de cierre de herida del 50% en el grupo blanco y en el grupo con el tratamiento del gel a base del extracto etanólico de la corteza de “capirona” al 1, 2 y 4% se redujo al 89% y el extracto liquido de cebolla, heparina sódica, alantoína con gel (Contratubex) al 80%”

3.4. Toxicidad Dérmica

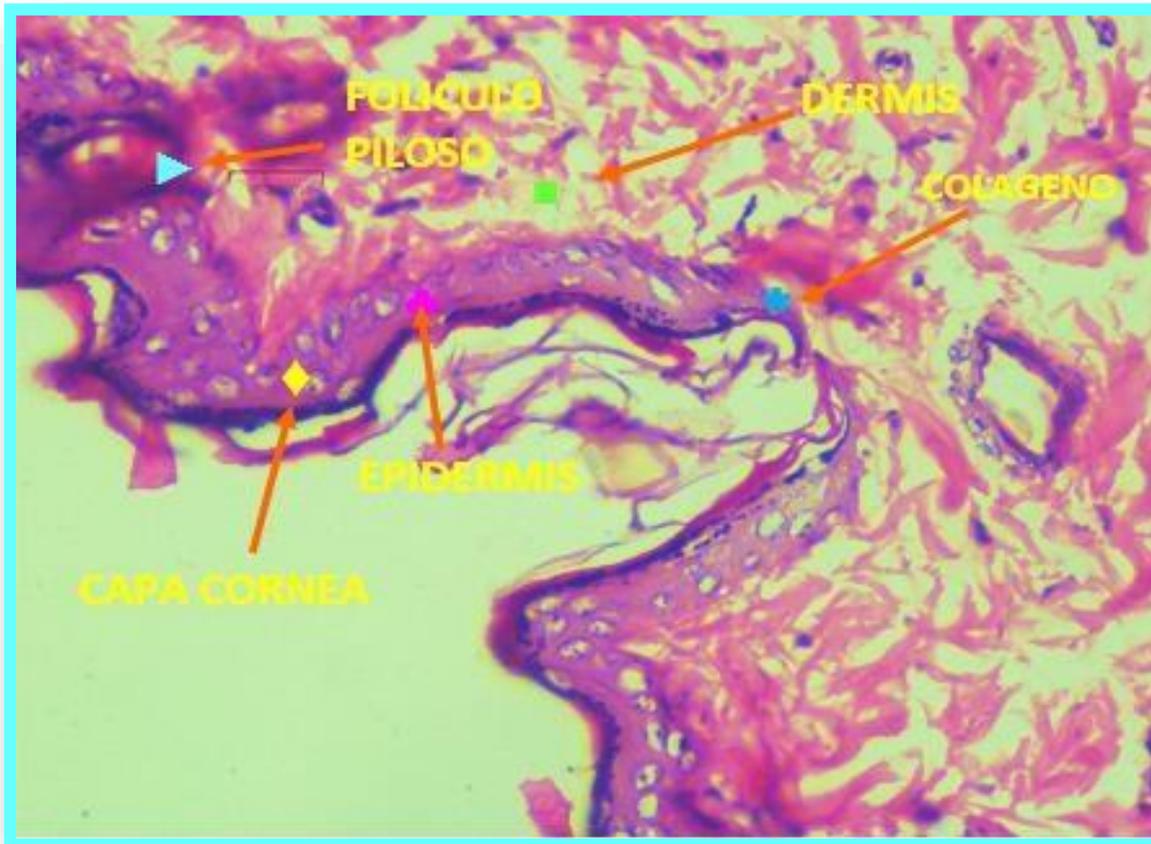
Se evaluó los siguientes cortes histológicos de la piel en las ratas machos



Leyenda: (♣) Epidermis, (♦) capa cornea, (●) folículo piloso, (►) dermis y (▼) Fibroblastos.

Figura 9. Corte histológico del grupo control; rata macho en toxicidad dérmica (40X)

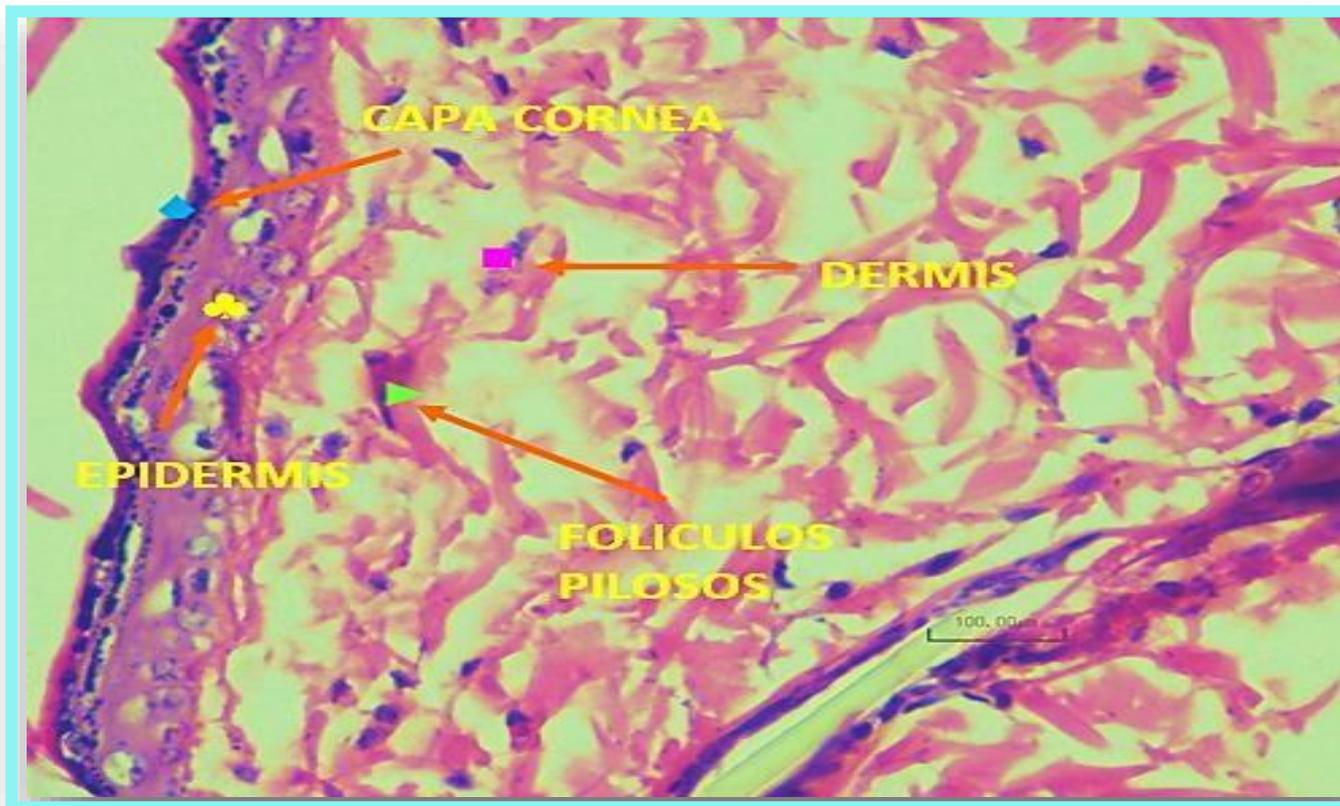
“En la figura 9 se observa piel discontinua, epidermis delgada (♣), capa cornea (♦), debajo encontramos (congestión leve) en el folículo piloso (►), se observa la dermis (■) y Fibroblastos (▼).”



Leyenda: (♣) epidermis, (♦) capa cornea, (■) dermis, (▶) folículo piloso, (*) colágeno

Figura 10. Corte histológico del grupo control; rata hembra en toxicidad dérmica (40X).

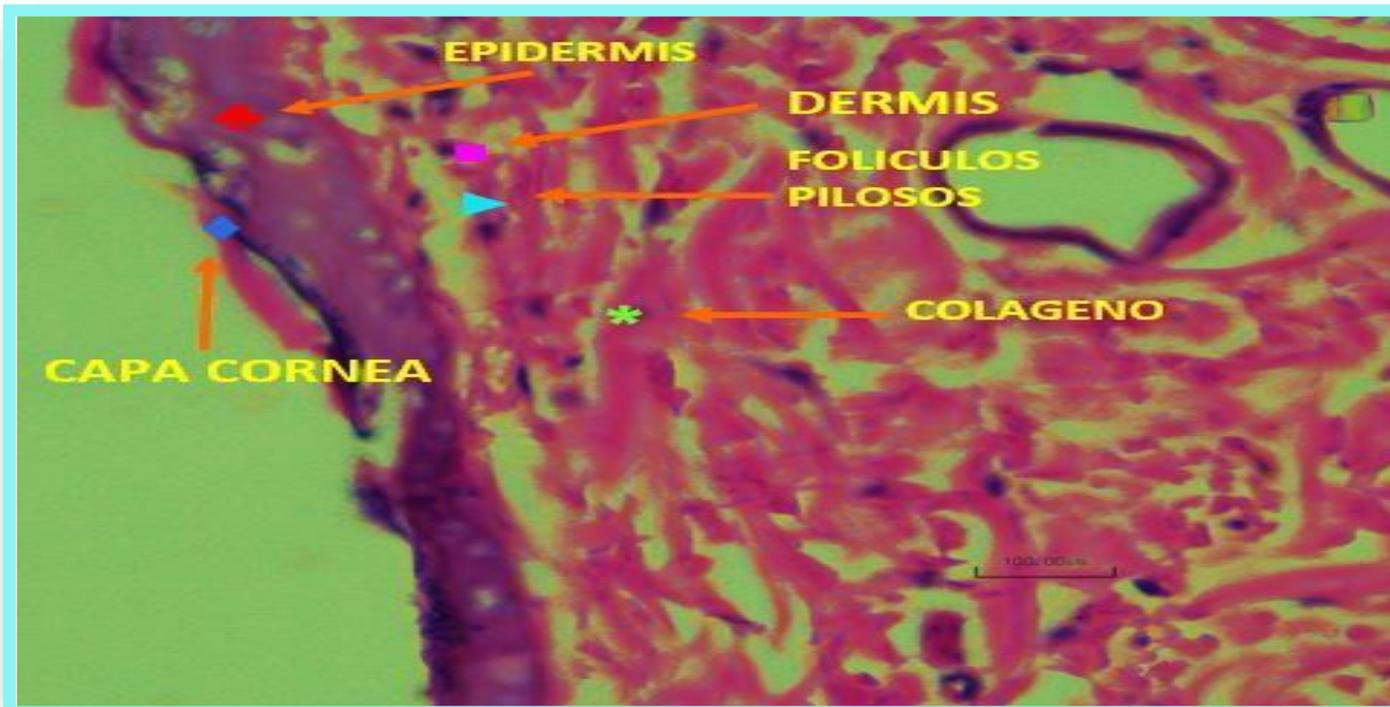
“En la figura 10 se observa la piel con epidermis (♣) delgada y capa cornea gruesa (♦). Se aprecia gran cantidad de piel descamada, en la dermis (■) se aprecia gran cantidad de folículo piloso (▶), se halla en la dermis gran cantidad de colágeno (*) sin congestión microscópicas.



Leyenda: (♦) capa cornea, (♣) epidermis, (■) dermis, (▶) folículos pilosos

Figura 11. Corte histológico del grupo experimental; rata hembra en toxicidad dérmica (40X).

“En la figura 11 se observa la piel del grupo experimental con una dosis de 5000 mg /Kg vía oral y dérmica. Se aprecia la capa cornea delgada (♦), epidermis (♣) y dermis conservada (■) con folículos pilosos (▶) sin congestión microscópica.”



Leyenda: (◆) capa cornea, (♣) epidermis, (■) dermis, (▶) folículos pilosos.

Figura 12. Corte histológico grupo experimental; rata macho en toxicidad dérmica (40X).

“En la figura 12 se observa tejidos conjuntivos, epidermis (♣), dermis (■) conservada, colágeno en gran cantidad (*), folículos pilosos (▶) en gran cantidad sin congestión microscópica.”

Tabla 7. Características en los cortes histológicos de las ratas albinas cepa Holtzman tratados con el extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex. Schum para la evaluación de la toxicidad dérmica.

		Grupo control (hembra)	Grupo control (Macho)	Rata hembra				Rata macho			
	N° rata	B1	B2	1	2	3	4	1	2	3	4
EPIDERMIS	Capa cornea	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Epidermis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DERMIS	Colágeno	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Folículos pilosos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Músculos erectos del pelo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TEJIDO SUBCUTÁNEO	Tejido graso	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Vasos sanguíneos y Linfáticos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Leyenda: (0) piel normal; (1) congestión y (2) Carencia total de un tejido

“En la tabla 7 se observa que no presenta toxicidad dérmica tanto el grupo control y grupo de tratamiento; la piel esta con una congestión leve en la epidermis como se demuestra en la capa cornea esto se debe a que la piel se encuentra expuesta a irritación por agente externos. A diferencia de la dermis y tejido subcutáneo la piel se muestra normal.”

3.5. Análisis estadístico

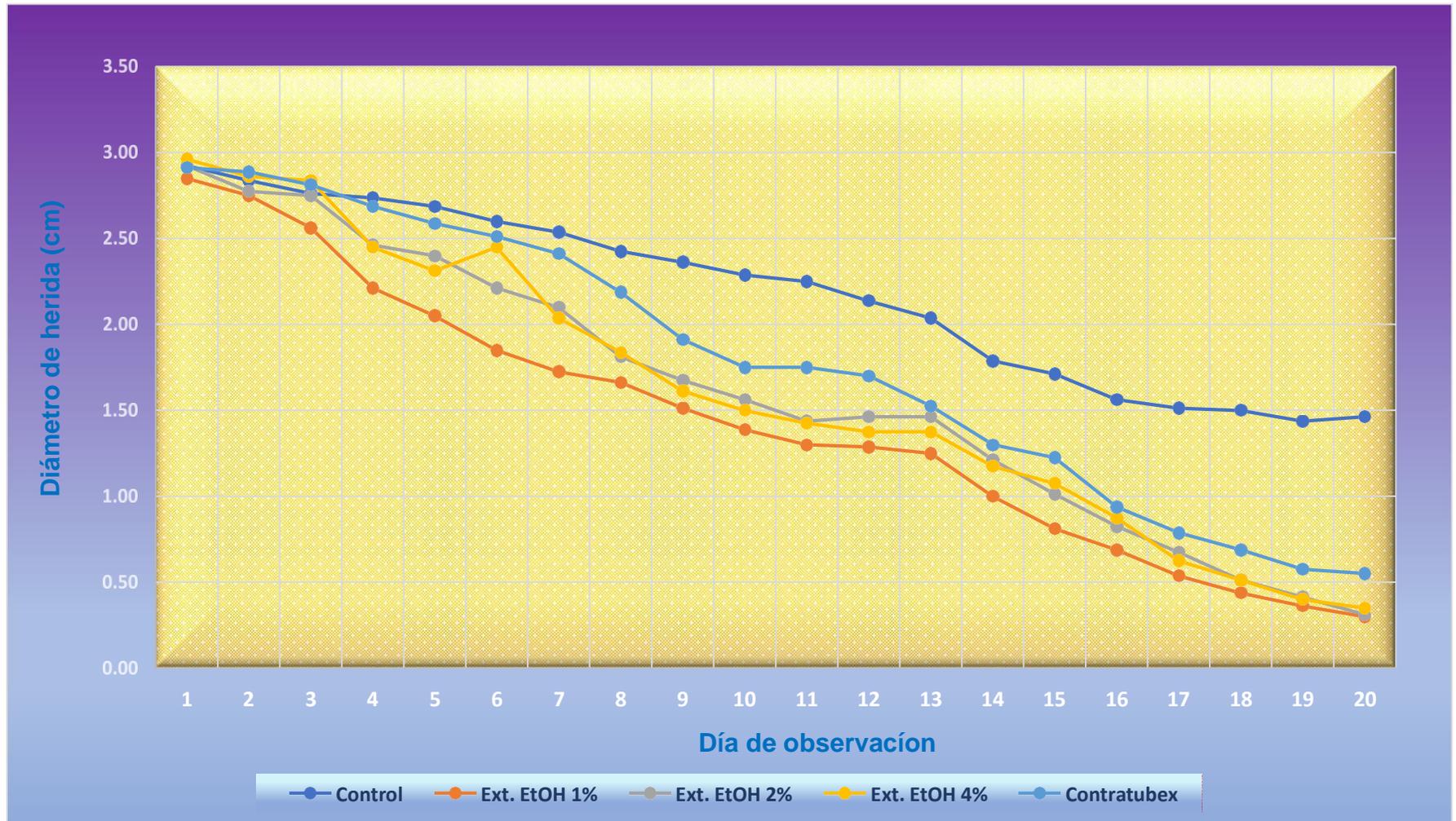


Figura 13. Evolución del diámetro promedio de herida en cm según tratamiento por día.

Tabla 8. Resumen de la variación de diámetro de herida por día

DÍA	Día 2				
	Control	Ext. EtOH 1%	Ext. EtOH 2%	Ext. EtOH 4%	Contratubex
N	8	8	8	8	8
Media	3,11	3,46	5,21	3,38	0,83
Desv. Estándar	4,02	3,09	4,64	2,62	1,54

DÍA	Día 5				
	Control	Ext. EtOH 1%	Ext. EtOH 2%	Ext. EtOH 4%	Contratubex
N	8	8	8	8	8
Media	8,21	27,94	18,03	22,02	10,84
Desv. Estándar	7,67	7,13	6,59	5,03	7,68

DÍA	Día 10				
	Control	Ext. EtOH 1%	Ext. EtOH 2%	Ext. EtOH 4%	Contratubex
N	8	8	8	8	8
Media	21,66	51,28	46,78	49,10	39,50
Desv. Estándar	5,87	4,55	9,18	6,22	10,44

“En la tabla 8 muestra el porcentaje de cierre del diámetro de herida, en el Día 2 los porcentajes están entre 0,83 y 5,21%. Mientras que en el Día 5 en el grupo tratado con Ext. EtOH 1% presenta un porcentaje de cierre del 27,94% con respecto al primer día. Por su parte el grupo control presenta un porcentaje de cierre o variación apenas de 8,21%.

Los demás extractos presentan porcentajes de cierre de 18 y 22 por ciento mientras que el (Contratubex) muestra un porcentaje de cierre de solo 10,84%. En el Día 10 el grupo tratado con Ext. EtOH 1% ha disminuido en aproximadamente 1,5 cm motivo por el cual presenta un porcentaje de cierre del 51,28%. Seguido muy de cerca por los extractos restantes, por su parte el (Contratubex) presenta una variación favorable de 39,50 %. El día 15 Todos los grupos a excepción del grupo control presentan una variación o cierre de la herida mayor al 57 por ciento, liderado por el Ext. EtOH 1% con un porcentaje de 71,4%. Al finalizar el Día 20 el grupo control presenta una variación en el diámetro de la herida de más del 50%, mientras que el resto de los grupos presentan porcentajes superiores al 80%.”

Tabla 9. Contrastación de la Homogeneidad de varianzas por día.

DÍA	Estadístico de Levene	gl1	gl2	p valor
Día 2	1,632	4	35	0,188
Día 5	0,302	4	35	0,875
Día 10	2,093	4	35	0,103
Día 15	0,640	4	35	0,638
Día 20	11,156	4	35	0,000

“La tabla 9 presenta la prueba de homogeneidad de varianzas por cada día, la validación de este supuesto es necesario para decidir entre la aplicación de una prueba paramétrica con una prueba no paramétrica; los resultados obtenidos por el programa estadístico SPSS 24.0, para el estadístico de Levene proporcionan un p valor menor a 0,05 únicamente para el día 20, es decir en el resto de los casos (días 2, 5, 10 y 15) se utilizo una prueba ANOVA y comparaciones múltiples de Tukey, mientras que para el Día 20 utilizaremos una prueba no paramétrica debido a que no fue posible justificar la homogeneidad de varianzas.

Tabla 10. Prueba ANOVA del efecto cicatrizante

DÍA		Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	p valor
Día 2	Entre grupos	77,965	4	19,491	1,724	0,167
	Dentro de grupos	395,631	35	11,304		
	Total	473,596	39			
Día 5	Entre grupos	2082,619	4	520,655	10,962	0,000
	Dentro de grupos	1662,381	35	47,497		
	Total	3745,000	39			
Día 10	Entre grupos	4629,969	4	1157,492	20,150	0,000
	Dentro de grupos	2010,539	35	57,444		
	Total	6640,508	39			
Día 15	Entre grupos	4181,727	4	1045,432	12,697	0,000
	Dentro de grupos	2881,752	35	82,336		
	Total	7063,479	39			
Día 20 (*)	Entre grupos	9120,511	4	2280,128	123,191	0,000
	Dentro de grupos	647,812	35	18,509		
	Total	9768,322	39			

“En la tabla 10 presenta resultados significativos para los días 5, 10 y 15 (p valor $<0,05$); se puede concluir que existe evidencia estadística suficiente para afirmar que al menos uno de los grupos con variación promedio del cierre de las heridas fue diferente, es decir se dio un efecto cicatrizante significativo, por otra parte el Día 2 no se observó efecto cicatrizante significativo (p valor $> 0,05$); la prueba para el Día 20 es sólo referencial debido a que no se justifica una ANOVA en este caso.

Tabla 11. Subconjuntos homogéneos de HSD Tukey^a durante el día 5, 10 y 15.

Días	HSD Tukey ^a		Subconjunto para alfa = 0.05		
	TRATAMIENTO	N	1	2	3
Día 5	Control	8	8,21		
	Contratubex	8	10,84		
	Ext. EtOH 2%	8	18,03	18,03	
	Ext. EtOH 4%	8		22,02	22,02
	Ext. EtOH 1%	8			27,94
	Sig.		0,05	0,77	0,44
Día 10	Control	8	21,66		
	Contratubex	8		39,50	
	Ext. EtOH 2%	8		46,78	46,78
	Ext. EtOH 4%	8		49,10	49,10
	Ext. EtOH 1%	8			51,28
	Sig.		1,00	0,11	0,76
Día 15	Control	8	41,48		
	Contratubex	8		57,37	
	Ext. EtOH 4%	8		63,32	63,32
	Ext. EtOH 2%	8		65,38	65,38
	Ext. EtOH 1%	8			71,54
	Sig.		1,00	0,41	0,38
	Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				

“En la tabla 11 se observa que en el Día 5 el Ext. EtOH al 2% y el Contratubex no evidenciaron un efecto estadísticamente significativo, mientras que el Ext. EtOH al 1% y 4% presenta efecto cicatrizante. En el Día 10 todos los extractos incluidos el Contratubex presentan efectos cicatrizantes comparables a excepción del Ext. EtOH 1% el cual presenta un efecto muy superior al resto (porcentaje de cierre del 71,54%). El día 15 la ventaja del grupo tratado con Ext. EtOH 1% se mantiene. En el día 20 se utilizó la prueba de Games-Howell debido a que las varianzas no fueron homogéneas.”

Tabla 12. Prueba de Kruskal Wallis diámetro de herida día 20.

	Diámetro de herida
H de Kruskal-Wallis	31,680
GI	4
p valor	0,000

“La tabla 12 presenta una prueba no paramétrica, en la cual el valor es menor a 0,05. Es decir, las distribuciones de los diámetros de las heridas en el día 20 no son iguales los 5 grupos, indicando por tanto encendió un efecto cicatrizante significativo.”

Tabla 13. Comparaciones múltiples de Games-Howell en el día 20.

Día 20		Diferencia de medias (I-J)	p valor
Control	Ext. EtOH 1%	-39,44625*	0,000
	Ext. EtOH 2%	-39,24750*	0,000
	Ext. EtOH 4%	-38,09625*	0,000
Ext. EtOH 1%	Ext. EtOH 2%	0,19875	1,000
	Ext. EtOH 4%	1,35000	0,777
Contratubex	Ext. EtOH 1%	-8,53750*	0,000
	Ext. EtOH 2%	-8,33875*	0,001
	Ext. EtOH 4%	-7,18750*	0,001

“La tabla 13 nos permite concluir que en el Día 20 los 3 extractos presentan un efecto cicatrizante significativo (p valor = 0,000), mientras que no se observa diferencias entre extractos, siendo a su vez todos estos superiores al extracto líquido de cebolla, heparina sódica, alantoína con gel (Contratubex) (p valor= 0,000).”

Tabla 14. Porcentaje de cierre de herida respecto al grupo control por día (%).

Día	Contro l	Ext. EtOH 1%	Ext. EtOH 2%	Ext. EtOH 4%	Contratubex
1	0,0	2,6	0,0	-1,3	0,4
2	0,0	3,1	2,2	-0,9	-1,8
3	0,0	7,2	0,5	-2,7	-1,8
4	0,0	19,2	10,0	10,5	1,8
5	0,0	23,7	10,7	14,0	3,7
6	0,0	28,8	14,9	5,8	3,4
7	0,0	32,0	17,2	19,7	4,9
8	0,0	31,4	25,3	24,2	9,8
9	0,0	36,0	29,1	31,7	19,0
10	0,0	39,3	31,7	34,4	23,5
11	0,0	42,2	36,1	36,7	22,2
12	0,0	39,8	31,6	35,7	20,5
13	0,0	38,7	28,2	32,5	25,2
14	0,0	44,1	32,2	34,3	27,3
15	0,0	52,6	40,9	37,2	28,5
16	0,0	56,0	47,2	44,0	40,0
17	0,0	64,5	55,4	58,7	47,9
18	0,0	70,8	65,8	65,8	54,2
19	0,0	74,8	71,3	72,2	60,0
20	0,0	79,5	78,6	76,1	62,4

“La tabla 14 presenta la actividad cicatrizante medida por el porcentaje de cierre de herida con respecto al grupo control por cada día. Hay algunos valores negativos en los primeros días debido a que no hubo mayor efecto, a partir del Día 4 aumenta hasta el (79,5%) para el Ext. EtOH 1%; (78,6%) para el Ext. EtOH 2% y (76,1%) en el Ext. EtOH 4%. Los cuales son superiores al tratamiento con el Contratubex (62,4%). Estos valores y el de los últimos días se muestran en la figura 12 y 13,

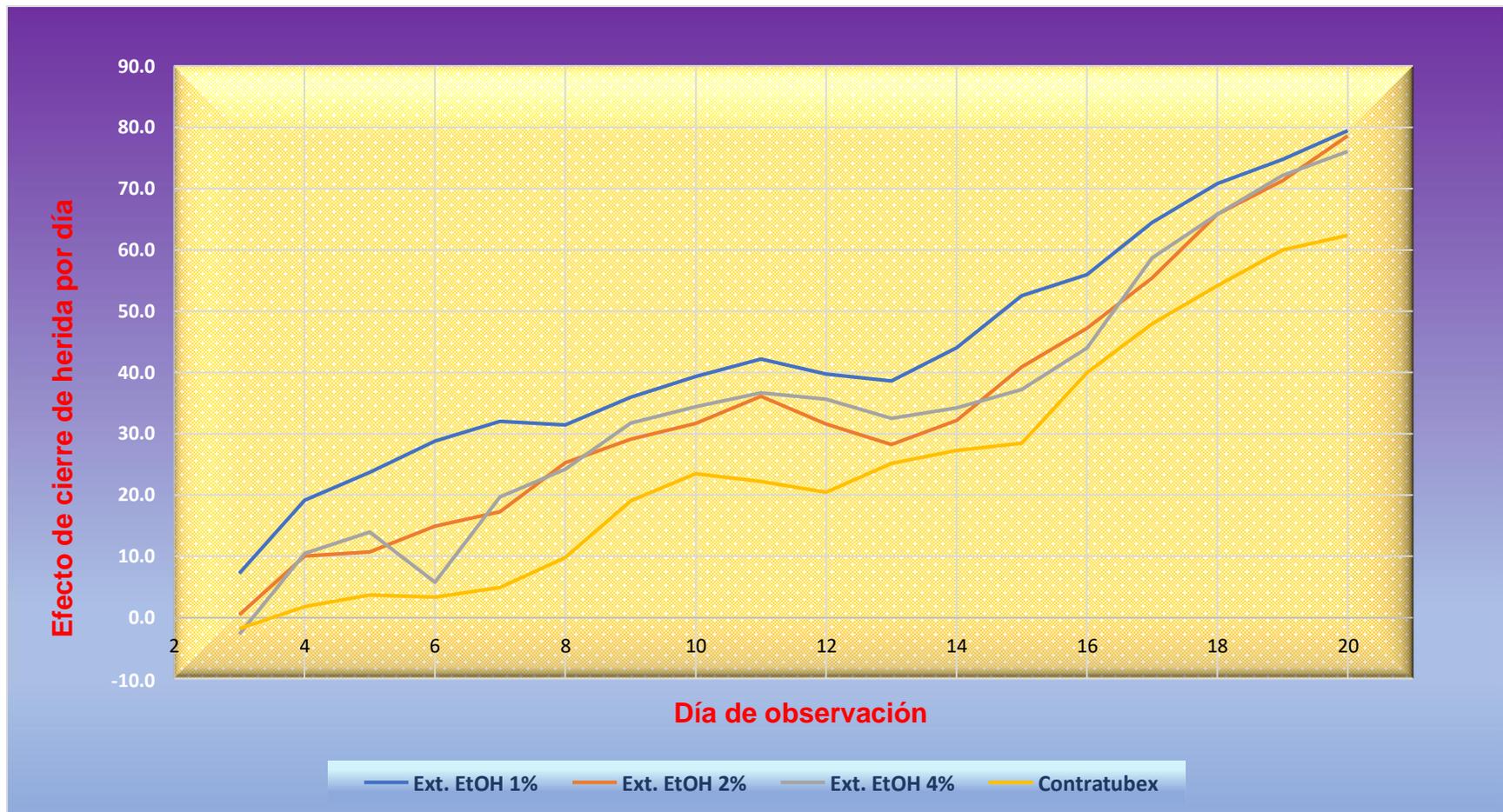


Figura 14. Evolución de la actividad cicatrizante según tratamiento respecto al grupo control por cada día.

“En la figura 14 se muestra la evolución de la actividad cicatrizante con tratamientos con el Ext. EtOH al 1, 2 y 4% y Extracto de cepae; Heparina sódica; Alantóina (Contratubex) por cada día.”

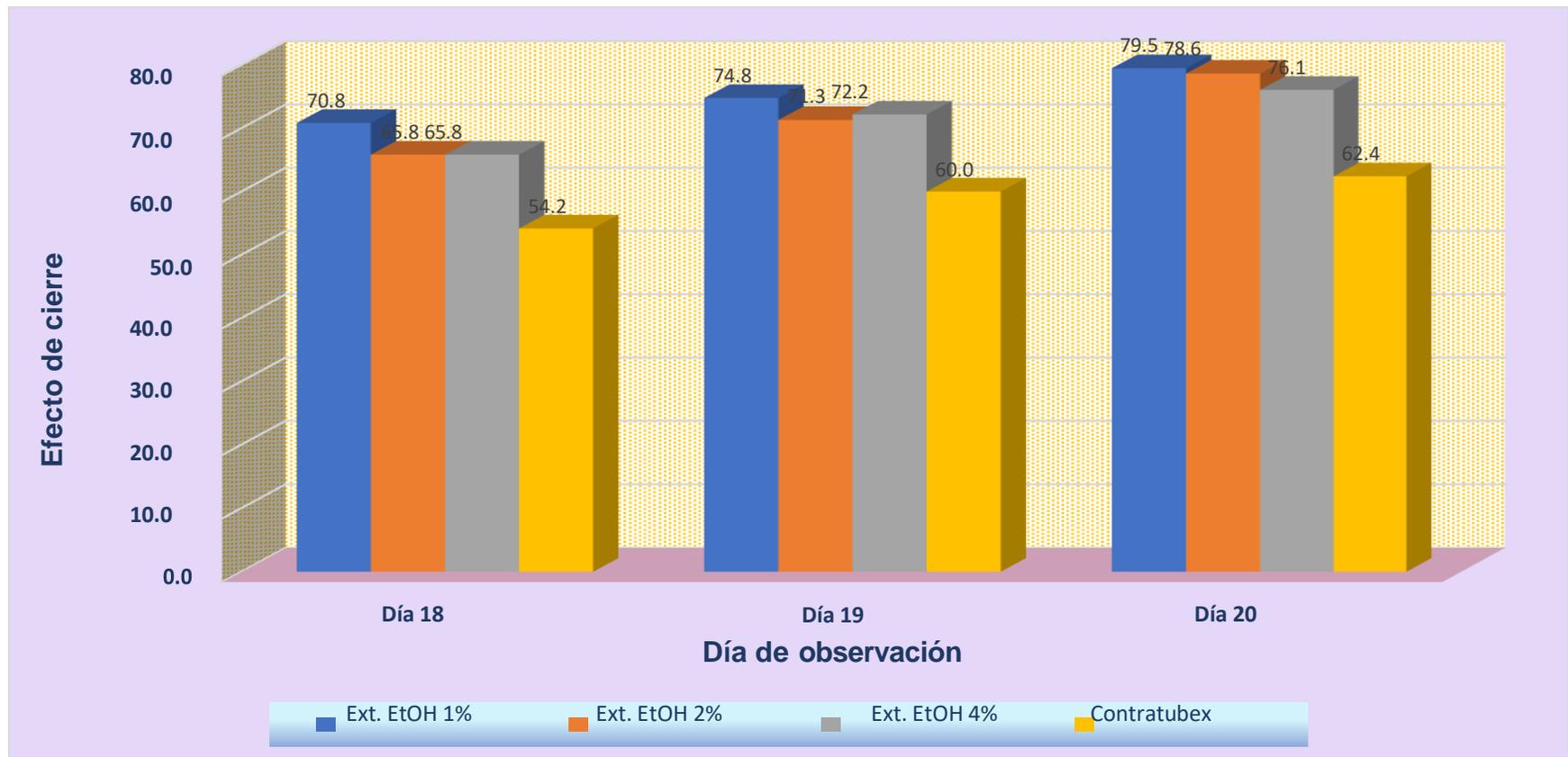


Figura 15. Actividad cicatrizante durante los días 18, 19 y 20.

“En la figura 15 se muestra la actividad cicatrizante con tratamientos con el Ext. EtOH al 1, 2 y 4% y Extracto de cepae; Heparina sódica; Alantoína (Contratubex) durante el día 18, 19 y 20.”

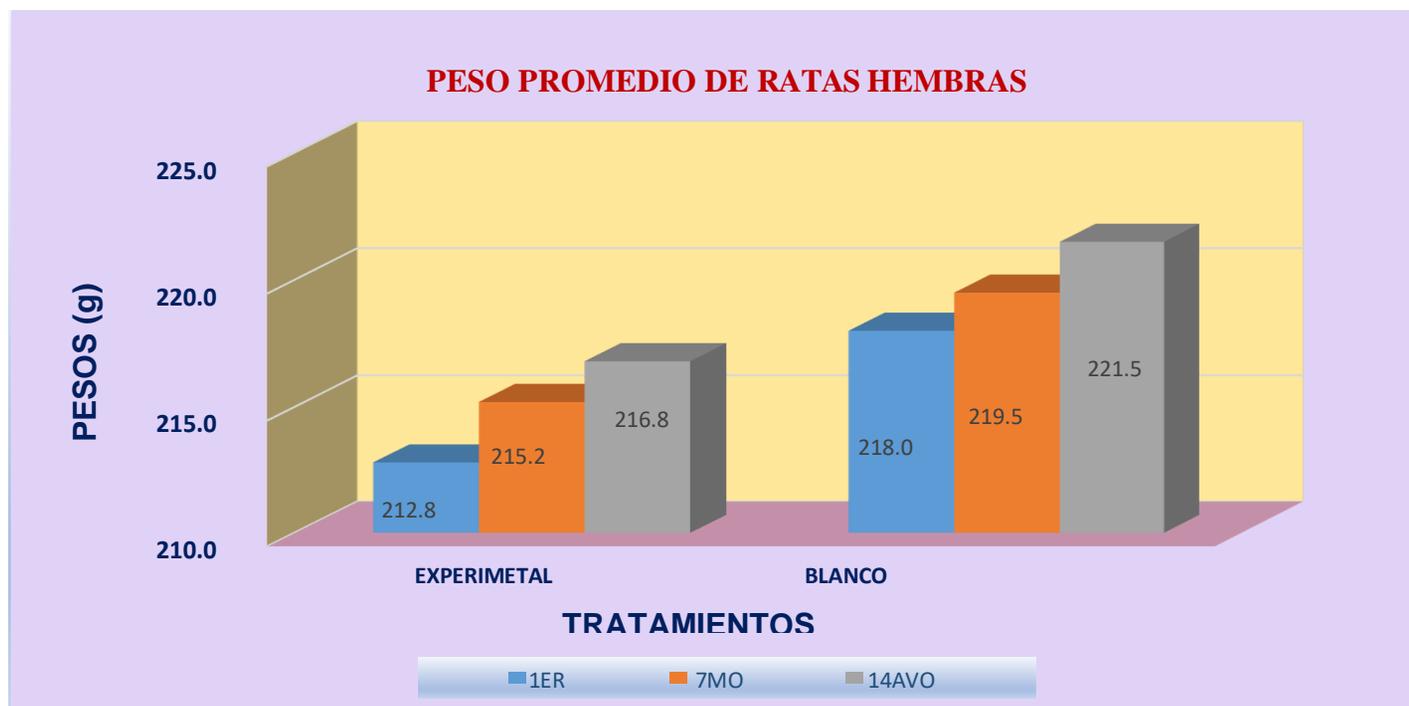


Figura 16. Los pesos corporales de las ratas hembras durante 14 días.

“En la tabla 13 y figura 16, se muestra la variación de los pesos corporales de las ratas hembras de cepa Holtzman, donde se observa el aumento de peso relacionado entre el grupo control y el grupo experimental tratado con el extracto de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum



Figura 17. Los pesos corporales de las ratas machos durante 14 días.

“En la tabla 14 y figura 17, se muestra la evolución de los pesos corporales de las ratas machos de cepa Holtzman, donde se observa el aumento del grupo control y el grupo experimental tratado con el extracto de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusiones

El extracto de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum es soluble en solventes polares (agua destilada, etanol, metanol) e insoluble en acetona, acetato de etilo, cloroformo, n-hexano, benceno, éter dietílico, y éter de petróleo, demostrando la solubilidad del extracto en los solventes polares, esto debido a la presencia de flavonoides por los grupos hidroxilos que forman glicósidos y una presencia mayoritaria de compuestos de alta polaridad, Lock O³⁰, en su libro Investigación fitoquímica. La presencia de sustancias aromáticas y conjugadas produce una intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro. Por lo tanto estos compuestos participan inhibiendo la lipoxigenasa, enzima que convierte el ácido araquidónico en leucotrienos (mediadores en el asma, alergia e inflamación) Taco D, En su artículo Fenoles naturales. ³³

Prado M, en su tesis titulada Estudio fitoquímico de la corteza de capirona *Calycophyllum spruceanum* en la zona de Pucallpa,³⁴ en la identificación de metabolitos se determinó la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides, triterpenos o esteroides y carbohidratos; con un valor negativo en la prueba de alcaloides y grupo amino libre. Coincidiendo con los mismos resultados de nuestra investigación. Soriano M, en la Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de *Senecio Culcitoides* Weed. F refiere que la presencia de flavonoides podría considerarse dentro de los principales factores que influyen en el proceso de cicatrización estimulando el crecimiento de las células epiteliales y la formación de fibras colágenas.³⁵

De Vargas F. en La actividad antioxidante y la inhibición de la peroxidasa de extractos de plantas amazónicas tradicionalmente utilizados como antiinflamatorios, aseveró que los extractos de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K.

Schum tienen un mayor potencial antioxidante por la presencia de compuestos fenólicos. Estos estabilizan la membrana celular capturando a los radicales libres presentes, evitando así el daño celular y activando el complejo sistema bioquímico para la regeneración del tejido.³⁶

Según el porcentaje de cierre presenta diferencia en los geles, tanto en el extracto líquido de cebolla, heparina sódica, alantoína con gel (Contratubex) posee un (62,4%) con respecto al grupo control (base del gel). Así mismo los geles a base del extracto de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum al 1, 2 y 4%; varían entre (79,5% -76,1%) con respecto al grupo control Tabla 12 y Figura 13. Se demostró que el gel al 1% a base del extracto de la corteza de capirona, tuvo mayor eficacia cicatrizante con respecto al grupo control esto es debido a los principios activos como los flavonoides, compuestos fenólicos y taninos las cuales poseen actividad regeneradora y cicatrizante.

En el análisis histopatológico se observa que los grupos experimentales tratados con gel a base del extracto de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum al 1, 2 y 4% comparándolo con el grupo control que se realizaron el día 21, como se indica en las figuras 7 y 8. Donde se observa la presencia de los diferentes procesos de cicatrización. En las pruebas estadísticas se redujo el cierre de herida al (50%) grupo blanco y en el grupo con el tratamiento del gel a base del extracto etanólico de la corteza de “capirona” al 1, 2 y 4% (89%) y el extracto con gel Contratubex (80%), se asume la asociación de las pruebas estadísticas con los procesos histopatológicos según Juro S ,en su artículo : El efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotrópica diels* “nogal” en ratones albinos.³⁷

En los grupos tratados con las formulaciones de gel a base del extracto de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum al 1, 2 y 4% no murió ningún animal. Esta especie vegetal además de contener taninos condensados, que le confieren actividad cicatrizante y queratinizante, contiene acción antibacteriana y antimicótica, lo cual podría haber evitado la infección de las

heridas abiertas corroborando con el estudio Juro S.³⁷ En la figura A y B de los cortes histológicos en ratas hembra se observa que la reepitelización se relaciona con la migración de queratinocitos epidermales. Por lo tanto los queratinocitos, es un componente celular importante de la epidermis, donde son responsables de restaurar la epidermis después de la lesión a través de un proceso denominado epitelización, ellos mismos producen y secretan factores de crecimiento y proteínas de membrana basal que ayudan no solo a la epitelización, sino también, a otras fases de la cicatrización los cuales fueron corroborados con los estudios de Pastar I, *et al* y Lorenz H Epitelización en la cicatrización de heridas.^{38, 39}

De igual manera la presencia de colágeno es muy importante en las fases tempranas del proceso de cicatrización y de la formación de tejido de granulación que posteriormente dará lugar al tejido cicatricial, dentro de este proceso la formación de colágeno se debe a la acción de las citoquinas y los fibroblastos, además promueve la migración de células endoteliales los cuales fueron corroborados con el estudio de Torres, *et al*. El uso de colágeno en la cicatrización de las heridas.⁴⁰

En el análisis de la toxicidad dérmica del extracto etanólico de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum "Capirona" a una dosis única máxima de 5000 mg /Kg en ratas cepa Holtzmann, no se observó toxicidad dérmica en todas las ratas, así como también en la figura 14 y 15, no demostró variación de sus pesos corporales la misma conclusión afirmó López B, *et al*.⁴¹

Los valores de peso corporal obtenidos en los días 0, 7 y 14, en ambos ensayos, mostraron una tendencia al aumento continuo. En la evaluación anatomopatológica no se observaron alteraciones en la superficie externa de los animales en la cual se muestra en la figura 9 y 15 corroborados con el estudio positivos de Arteaga M, *et al*.⁴²

La biopsia de piel es necesaria para evidenciar gran cantidad de fibras de colágeno y los fibroblastos del tejido conectivo en la dermis según Suastegui L⁴³

4.2. Conclusiones

- Se realizó el análisis cualitativo, del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona”, evidenciándose metabolitos primarios: Carbohidratos, azúcares reductores, y los metabolitos secundarios: Flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, triterpenos y/o esteroides.
- Se comprobó la actividad cicatrizante del gel a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum en ratas albinas Holtzmann en diferentes concentraciones, donde el gel al 1%, obtuvo una mayor eficacia con respecto al grupo control (79,5%), el gel al 2% (78,6%) y al 4% (76,1%); la cual es superior al Contratubex (62,4%).
- Se determinó que el extracto de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona” por vía oral y tópica en las ratas albinas Holtzmann, no presentó evidencia de toxicidad dérmica en ratas a una dosis de 5000 mg/kg, lo cual se corroboró con los cortes histológicos.

4.3. Recomendaciones

- Se recomienda análisis de cromatografía de capa fina para una mejor identificación de los aminoácidos para realización de trabajos posteriores.
- Desarrollar el estudio fitoquímico de la raíz de la planta *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” para estudios posteriores de gran importancia en la salud.
- Se recomienda ejecutar otras composiciones en la formulación para mejorar la actividad cicatrizante.
- Se recomienda que cuando se trabaje con animales de experimentación, se deben emplear las BPL (Buenas prácticas de laboratorio) en el bioterio para mejorar el proceso y evitar la contaminación.

CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Villar M, *et al.* Expertos en plantas medicinales. Situación de las plantas medicinales. Rev.Peru.2018;(3) 1-13.
2. Pardal R. Medicina Aborigen Americana. 1era Edición. Editorial Renacimiento.1998.
3. Escalona C, Col. Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2015; 20(4):429-439.
4. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An Fac med 2016; 77(4):327-32.
5. Santos A, Col. Sobre botánica, etnofarmacología y química de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum Rev. Bras. Plantas med. 2016; 18(1): 383-389.
6. Vega M. Etnobotánica de la Amazonia Peruana. 1era Edición. Editorial Abya Yala. 2001.
7. Peixoto H, Col. *Calycophyllum spruceanum* (Benth.). El “Árbol de la juventud” amazónica prolonga la longevidad y aumenta la resistencia al estrés en *Caenorhabditis elegans*. Moléculas. 2018; 23(3): 534.1
8. Vílchez H, Inocente M, Flores O. Actividad cicatrizante de seis extractos hidroalcohólicos de plantas en heridas incisas de *Rattus norvegicus albinus*. Revista Cubana de Medicina Militar. 2020; 49(1): 86-100. ISSN 1561-3046.
9. Vasquez S. Evaluación del uso e impacto de especies de flora utilizada en medicina tradicional en la ciudad de tamshiyacu, Loreto.[tesis]. 2014
10. Ushinahua D. Comportamiento fenológico preliminar de capirona en la provincia de San Martín. Revista Estación Experimental Agraria “El Porvenir” San Martín. 2016; 4(2):1-2.

11. Daza M. Polifenoles totales y capacidad antioxidantes en *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum .Rev. Fac. Recursos Naturales .2004. [TESIS]. Disponible en: <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/655/T.FRS-29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
12. Guarín C, Col. Proceso de Cicatrización de heridas de piel, campos endógenos y su relación con las heridas crónicas. Rev. Fac. Med. 2013; 61(4): 441-448.
13. Velásquez D, Col. Soluciones terapéutica para la reconstrucción de la dermis y la epidermis. Oportunidades en el medio antioqueño. Revista Ingeniería Biomédica. 2008; 2(3): 77-83.
14. Andrade P, Elías P, Grandez R, Mamani P. Descripción histológica de la piel de la rana gigante del Titicaca *Telmatobius culeus*. Rev. Investig. Vet. Perú. 2018; 29(1): 64-74.
15. Megiás P, Molist G, Pombal D. Atlas de Histología Vegetal y Animal. Órganos animales. Universidad de Vigo. Depto. de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. España. 2018.
16. Robbins C. Atlas de anatomía patológica. 7ed. Editorial Elsevier. 2000.
17. Senet P. Fisiología de la cicatrización. 2016. 10(2): 2-3. Disponible en : http://paginas.facmed.unam.mx/deptos/cirurgia/images/Articulos_casos/Tema_9/T9-IC-Fisiologa-de-la-cicatrizacin.pdf.
18. Lima B, Ferreira P, Col. Factores asociados a la cicatrización de heridas quirúrgicas complejas mamaria y abdominal: estudio de cohorte retrospectivo. Rev. Latino-Am. 2016;24: 28-11
19. Borges E, Pires J, Abreu M, col. Factores asociados a la cicatrización de heridas quirúrgicas complejas mamaria y abdominal: estudio de cohorte retrospectivo. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 2016; 24: 2811.
20. Giannuzzi L. Toxicología general y aplicada.Ed. la universidad de la plata .Rev.

Colombia .2017.

21. Roldan R. Introducción a la farmacología. Rev. toxicológica. 2016; 77(1): 4 -6.
22. Martínez A. Obtención y caracterización de extracto etanólico de *Hamelia patens jacq.* para aplicación tópica. [Tesis].2016. Disponible en: http://www.biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_4017.pdf.
23. Cevallos D, Col. Composición química, actividad cicatrizante y toxicidad del látex de *Croton Lechler*. Revista Científica, FCV-LUZ /2016; 26(2): 95-103.
24. Morales D. Toxicidad subaguda del extracto acuoso de hojas de *chichipince Hamelia patens Jacq* (Rubiaceae) en ratones cepa NIH de laboratorio. [TESIS] 2018. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/19734/1/13101691.pdf>
25. Cárdenas T, Fernández J. Actividad toxicológica de pomada Dermoimet en ratas albinas cepa Holtzman, según modelo de irritación y toxicidad aguda cutánea [TESIS]. 2018. Disponible en: file:///C:/Users/Lenovo/Downloads/Tula_Tesis_Titulo 2018.pdf.
26. Cueva R. Efecto cicatrizante del ungüento de *Dodonaea Viscosa JACQ.*Chamisa en ratones *Balb / C 53*. [TESIS] 2017. Disponible en: <http://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/UMA/156/OICI-026-2016%20Informe.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
27. Mango E, Durand J. Obtención de polifenoles de hojas de *genipa americana* (jagua) y evaluación de su actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos. [TESIS]. 2018
28. Maldonado V. Experimentación con biomodelos animales en ciencias de la salud. Avn. Biomed. 2016; 5(3): 173-7.
29. Said O, Fulder Stephen, Khalil Khaled, Azaizeh Hassan, Kassis Eli, Saad Bashar, Maintaining A Physiological Blood Glucose Level with ‘Glucoselevel’, A Combination of Four Anti-Diabetes Plants Used in the Traditional Arab Herbal Medicine, Evidence-based Complementary and Alternative Medicina : eCAM.

2008; 5(4): 421-428

30. Lock O. Investigación fitoquímica – métodos en el estudio de productos naturales. 2º ed. Ed. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, Perú.1994:114-115.
31. Quispe C, Blacido P. Actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del extracto etanólico de los tubérculos de *Ullucos tuberosus caldas* “olluco” en animales de experimentación. [TESIS] 2018. Disponible en: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/08/910765/actividad->
32. Sanabria, A. Análisis fitoquímico preliminar. Metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia *Compositae*. Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.1983:120-121.
33. Taco D. Fenoles naturales. Rev. Ecuador. Química de alimentos química orgánica [internet] 2015, pp. 7-14. Disponible en: <http://q-organicauce.wikispaces.com/file/view/Taninos%5B1%5D.pdf>.
34. Prado M. Estudio fitoquímico de la corteza de capirona *Calycophyllum spruceanum* en la zona de Pucallpa [TESIS] 2009. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/425/F60.P8-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
35. Soriano M, *et al.* Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de *Senecio Culcitoides* Weed. Rev. Dermatol. Perú 2004; 15: 10-14.
36. De Vargas F, *Col.* La actividad antioxidante y la inhibición de la peroxidasa de extractos de plantas amazónicas tradicionalmente utilizados como antiinflamatorios. Complemento BMC Altern Med.2016; 16:83.
37. Juro S, Flores V, *col.* Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *juglans neotrópica diels* “nogal” en ratones albinos. Rev. folia dermatol. 2010; 26:4-6.

38. Pastar I, Col. Epitelización en la cicatrización de heridas: una revisión integral. Rev. PMC. Estados Unidos .2014.
39. Lorenz H y Longaker M. Wounds: Biology, Pathology, and Management. Stanford University Medical Center.2011; 12: 11-12.
40. Torres J, et al. El uso del colágeno en la cicatrización de las heridas. Rev. Enf. 2000.10:3-4
41. López M, Col. Toxicidad aguda tóxica e irritabilidad dérmica de la decocción de hojas de *Piper auritum Kunth* (caisimón de anís). Rev. Cubana Plant Med. [Internet]. 2014; 19(4): 443-450.
42. Arteaga M, Col. Evaluación del ifopol mediante método de las clases de toxicidad y toxicidad aguda dérmica. Rev. Rev. Salud Anim. [Internet] Vol. 29 No. 3 (2007): 156-159.
43. Suástegui L, Col. Reacciones cutánea adversas a medicamentos. Rev. México. 2018. 56 :64-70.

ANEXO

Anexo A: Matriz de consistencia

TEMA: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE Y TOXICIDAD DÉRMICA DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA CORTEZA DE <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona” EN RATAS HOLTZMAN					
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	JUSTIFICACION	VARIABLE	METODO
-¿Presenta actividad cicatrizante y toxicidad dérmica el gel a base del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” en ratas albinas Holtzman?	-Comprobar la actividad cicatrizante y toxicidad dérmica el gel a base el extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” en ratas albinas Holtzman.	-El gel a base extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” posee actividad cicatrizante y toxicidad dérmica en ratas albinas Holtzman.	- Salud: Contribuirá como alternativa a los productos farmacéuticos. - Económico: Permitirá utilizar los recursos vegetales de la Amazonia Peruana como tratamiento alternativo.	VARIABLE INDEPENDIENTE: El gel a base extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum “capirona” VARIABLE DEPENDIENTE: -Actividad cicatrizante -Toxicidad dérmica	DISEÑO: experimental TIPO: aplicada POBLACIÓN DE MUESTRA: 1kg de hojas secas molidas de “capirona” y 62 ratas albinas evaluadas TÉCNICA: Observación estructurada sin participación. INSTRUMENTO: Ficha de observación Ad-hoc PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS: Análisis descriptivo con programa ANNOVA y prueba de T Student.
PROBLEMAS ESPECIFICOS:	OBJETIVOS ESPECIFICOS:	HIPOTESIS ESPECIFICOS:			
1) ¿Que metabolitos presenta el extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum?	1) Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum.	1) Existe metabolitos en el extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum.			
2) ¿En qué concentraciones el gel a base del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum Spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum posee actividad Cicatrizante?	2) Comprobar la actividad cicatrizante del gel al 1, 2 y 4% a base del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum en ratas albinas Holtzman.	2) Existe una concentración de gel a base del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum que tiene mayor actividad cicatrizante.			
3) ¿Presenta problemas en la epidermis y dermis, el extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum en ratas albinas Holtzman?	3) Determinar la toxicidad dérmica en ratas tratadas con el gel al 1, 2 y 4% a base del extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum .	3) El extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum presenta problemas dermis a nivel de la dermis y epidermis.	- Social: Contribuirá a promover la elaboración de cremas, loción, etc.		

Anexo B: Operacionalización de variables

DISEÑO	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensión	Indicador	Instrumento	Escala	Fuente
INDEPENDIENTE El gel a base extracto etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook. f. ex Schum "capirona"	Preparados semilíquidos con concentrados de origen vegetal obtenidos por de una droga mediante maceración	Producto semilíquido a base de un proceso de maceración etanólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum para la identificación de metabolitos secundarios	Fitoquímica	Identificación de metabolitos secundarios	Ficha de observación ad-hoc	-Control negativo - Extracto líquido de cebolla, heparina sódica, alantoína con gel (Contratubex) -Gel Ext - EtOH 1% -Gel Ext - EtOH 2% -Gel Ext - EtOH 4%	Tratamiento por el investigador cada 12 horas
			Galénico	Concentración del gel			
DEPENDIENTE Actividad cicatrizante	Proceso fisiológico, defensivo natural del organismo ante agresiones del medio	Lesión inducida en lomo de las ratas para identificar el efecto cicatrizante	Tiempo	Días de cicatrización	Ficha de observación ad-hoc	Días	Lomo de las ratas
			Magnitud	Gramos de peso de la rata 220 g ± 240 g	Ficha de observación ad-hoc	220 g ± 240 g	
DEPENDIENTE Toxicidad dérmica	Es la capacidad de una sustancia de producir daño tóxico, en forma de lesión	Se expuso en el dorso de la rata 5000 mg/ kg de de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth) Hook f. ex K. Schum, para identificar toxicidad Dérmica	Toxicológico	DL50	Ficha de observación ad-hoc	50% de ratas muertos	Ratas

Anexo C: Comité de ética

Lima, 20 de Enero del 2020

Mg. Hugo Justil Guerrero
Profesor tiempo completo. Miembro de la Comisión de Grados y Títulos
E.A.P. Farmacia y Bioquímica.
Universidad Privada Norbert Wiener

Asunto: Dictamen de informe de comité de ética, del proyecto Evaluación de la actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del gel a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum "capirona" en ratas albinas *Holtzmann*

El Código de Ética para la Investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener es un instrumento que tiene por finalidad proteger los derechos, de la vida, la salud, la intimidad, la dignidad y el bienestar de las personas y de todo ser vivo que participen o van a participar de proyectos de investigación, de modo que estos en su ejecución se ciñan a los principios éticos acogidos por la normatividad nacional e internacional, y los acuerdos suscritos por nuestro país en la materia.

El presente proyecto se ajusta a los principios que rigen la actividad investigadora de la Universidad, la misma que está contemplada en el Código de Ética para la Investigación, Setiembre 2019- V02. 1/13. Capítulo III. Artículo N° 6 (principios: a, c, e, f, g). Así mismo se informa que la asesora esta de acorde como investigador citado en el Artículo N° 7, con todos sus lineamientos.

Visto y revisado, el proyecto de tesis intitulado: Evaluación de la actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del gel a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. f. ex Schum "capirona" en ratas albinas *Holtzmann*, presentado por Br. Br. Gamboa Ortiz, Milagros Ruth y Br. Miranda Rivera, Estefani Samantha y asesora Dra. Juana Elvira Chávez Flores.

Los interesados pueden continuar con el trámite documentario y desarrollar la investigación, porque cumple con la normatividad vigente de investigación.


Dra. Brit Alvarado Chávez
Presidenta del Comité de Ética
Universidad Privada Norbert Wiener

Adjunto: Proyecto de investigación revisado.

Anexo D: Taxonomía de la especie *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.



“Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional”

CONSTANCIA N° 300-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (hojas y corteza), recibida de **Milagros Gamboa Ortiz** estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada Norbert Wiener; ha sido estudiada y clasificada como: *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: RUBIALES

FAMILIA: RUBIACEAE

GENERO: *Calycophyllum*

ESPECIE: *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum.

Nombre vulgar: “capirona”
Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 22 de agosto de 2018



Mag. **ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA**
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

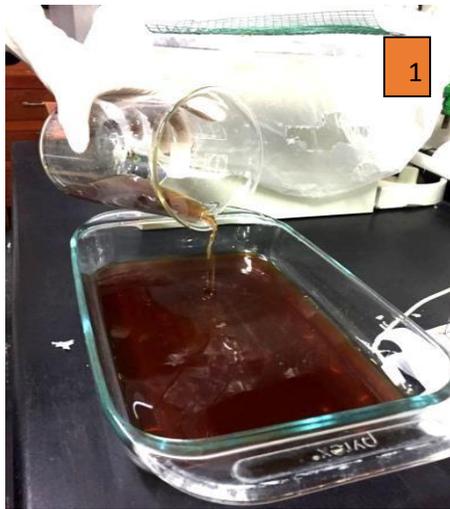
Anexo E: Recolección de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.



Anexo F: Molienda y preparación del macerado etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.



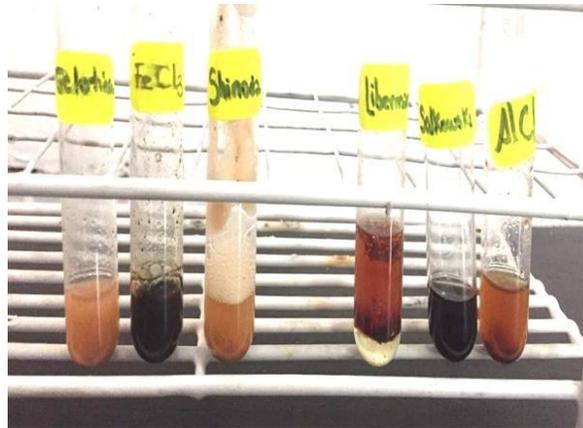
Anexo G: Filtración del macerado etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona” y obtención del extracto.



Anexo H: Prueba de solubilidad del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.



Anexo I: Análisis cualitativo del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.



Anexo J: Pesado de los animales, delimitación y depilación del área seleccionada para el tratamiento.



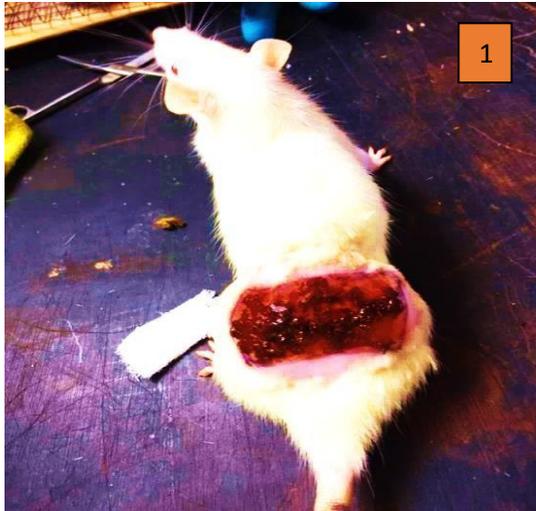
Anexo K: Ratas anestesiadas con pentobarbital 40 mg /kg y después se realiza la escisión en el dorso de cada uno de ellos.



Anexo L: Administración tópica de los geles a diferentes concentraciones a base del extracto etanólico de los *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona”.



Anexo M: Administración por vía tópica y dérmica del extracto etanólico de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona” para la prueba de toxicidad.



Anexo N: Cortes histológicos, que fueron colocados en envases con formol al 10% para su respectiva lectura en el microscopio.

