



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA
SALUD**

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL GEL ELABORADO A
BASE DEL LÁTEX DE *CROTÓN LECHLERI* “SANGRE DE
GRADO”**

PRESENTADO POR:

AUTOR: BACH. BARBOZA MEJÍA, LAURA

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

HUACHO- 2014

DEDICATORIA

A mis padres, quienes me brindan su incondicional apoyo en el logro de mis sueños y en especial a mi madre, quien es el ejemplo de trabajo, dedicación, fuerza en mi vida.

A mis hermanos Flor y Wilson por el apoyo constante.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme la fuerza, la fortaleza necesaria en los momentos más difíciles de mi vida para seguir adelante y luchar cada día para lograr mis objetivos.

A la Universidad Alas Peruanas, por haberme permitido realizar mis estudios.

A la Q.F. Tania Torrez Aguilar, al Q.F. Pául Ivan Gutiérrez Elescano, docentes de la de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y al Dr. Guillermo José Gallardo Vásquez, docente de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la UAP- Filial Huacho, a todos ellos por su apoyo y asesoramiento y valiosas sugerencias en todas las etapas del desarrollo de la presente tesis.

INDICE

| | |
|---|----|
| DEDICATORIA | 2 |
| AGRADECIMIENTO | 3 |
| INDICE | 4 |
| RESUMEN | 5 |
| ABSTRACT | 6 |
| INTRODUCCION | 7 |
| CAPITULO I: PLANTEAMIENTO METODOLOGICO | 10 |
| 1.1. Descripción de la Realidad Problemática | 10 |
| 1.2. Delimitación de la Investigación | 10 |
| 1.3. Problemas | 11 |
| 1.4. Objetivos | 12 |
| 1.5. Hipótesis y Variables de la Investigación | 12 |
| 1.6. Metodología de la Investigación | 13 |
| 1.7. Justificación, importancia y limitaciones | 24 |
| CAPITULO II: MARCO TEORICO | 26 |
| 2.1. Antecedentes de la Investigación | 26 |
| 2.2. Bases teóricas | 31 |
| 2.3. Definiciones básicas | 58 |
| CAPITULO III: PRESENTACION, ANALISIS E INTERPRETACIONES DE RESULTADOS | 60 |
| CONCLUSIONES | 71 |
| RECOMENDACIONES | 72 |
| BIBLIOGRAFIA | 73 |
| ANEXOS | 75 |

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad cicatrizante del gel elaborado a base del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” a diferentes concentraciones (0.5%, 1% y 2%). La recolección del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” se realizó en el Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto, ubicado entre los 106 a 220 msnm. Para ello se necesitaron 15 ratones *Rattus rattus var albinus* con pesos entre 23- 25 g. en los que se empleo el método de test de cicatrización. Los ratones pasaron por un proceso de aclimatación, luego fueron distribuidos al azar en grupos de 3 ratones, para los grupos controles y grupos para el tratamiento. Se hizo la depilación en la mitad del tercio superior del lomo de los ratones albinos para realizar las incisiones con un bisturí, cortes de 1 cm de longitud para posteriormente aplicar el tratamiento con los respectivos geles a diferentes concentraciones a cada grupo.

Después al octavo día, fueron sacrificados los ratones por sobredosis de pentobarbital sodico por vía intraperitoneal, se midió el peso necesario para reabrir la herida mediante un dinamómetro, obteniendose resultados favorables en un 95% de confianza mediante las pruebas estadísticas: ANNOVA one way y Prueba de Tukey como estudio post hoc. Comparando los resultados con el grupo control (sin tratamiento) y con el grupo tratado con un medicamento comercial, se obtuvo mayor efecto cicatrizante con el gel al 2% elaborado a base del látex de *Cróton lechleri* “Sangre de Grado”.

Palabras claves: *Crotón lechleri*, actividad cicatrizante, método tensiométrico

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the healing activity -based gel made of latex *Crotón lechleri* "Dragon's Blood" at different concentrations (0.5 %, 1 % and 2%). Latex collection *Crotón lechleri* "Dragon's Blood" It was held in the District of Iquitos, Department of Loreto, located between 106-220 meters. This 15 mice *Rattus rattus* var is needed albinus weighing between 23- 25 g. employment in which test method healing. Mice underwent a process of acclimatization were then randomly divided into groups of 3 mice for controls and treatment groups to groups. Waxing was done in the middle of the upper third of the back of albino mice to make the incisions with a scalpel, cut 1 cm in length, to apply to the respective treatment gels at different concentrations for each group.

After the eighth day, were sacrificed mice overdose of sodium pentobarbital intraperitoneally, the need to reopen the wound by a dynamometer weight was measured, obtaining favorable results in a 95 % confidence level using statistical tests: ANNOVA one way and Evidence as post hoc Tukey study. Comparing the results with the control group (untreated) and treated with the drug trade group, the greater healing effect was obtained with gel 2% processed from the latex of *Crotón lechleri* "Dragon's Blood".

Key words: *Crotón lechleri*, healing activity, tensiometric method

INTRODUCCION

La historia del hombre está estrechamente ligada con las plantas medicinales, las cuales hasta hoy se recurre para la curación de sus males y dolencias. En el mundo moderno el deterioro ambiental y la evidencia que los fármacos sintéticos provocan efectos negativos colaterales han estimulado el consumo de productos naturales. ^[6]

Las plantas medicinales, como el principal recurso en los sistemas médicos tradicionales, han sido utilizadas en la práctica médica durante miles de años y han hecho una gran contribución al mantenimiento de la salud humana. La mayoría de la población del mundo en los países en desarrollo todavía se basa en las plantas medicinales para satisfacer sus necesidades de salud. ^[6]

La salud es considerada un derecho fundamental de las personas, por lo tanto la prevención y el cuidado de la salud incluye el acceso a productos farmacéuticos de calidad, eficaces y seguros. Constituye un requisito para acceder a este derecho de tener el producto disponible y asequible en el lugar y momento que sea requerido. ^[1]

Según la Organización mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO), calcula que las dos terceras partes de la población mundial – 4000 millones de personas recurren al uso de las plantas medicinales, es decir, gran parte de la población mundial mantiene creencias hacia otras formas de prevenir y curar sus enfermedades, por otro lado, que su situación económica no les permite acceder a los servicios y productos de la medicina occidental. ^[6]

El Programa de Medicina Tradicional de la OMS propone como definición para la Medicina Natural; “La suma de conocimientos, habilidades, y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias, originaria de distintas culturas, sea explicable o no, utilizada para el mantenimiento de la salud, así como en la prevención, diagnóstico, mejoramiento y tratamiento de enfermedades físicas y mentales”. ^[9]

Los factores determinantes de la salud son, ante todo, de carácter socio-cultural, económico, ambiental y político y que, por lo tanto, es necesario enfocar la problemática general de salud desde una perspectiva más integral e intercultural. ^[9]

La medicina tradicional justamente es integral y, por lo tanto, presenta una visión adecuada a los problemas de salud. ^[9]

El empleo de diferentes especies vegetales, en el tratamiento de algunos procesos patológicos, es una práctica que aumenta cada día, constituyendo lo que se ha llamado la medicina alternativa. Esto es debido a que, en los últimos años, se ha intensificado la investigación fitoquímica que ha permitido identificar y aislar los principios activos responsables de su actividad farmacológica, dando lugar a que puedan ser presentados en variadas formas de dosificación. ^[6]

Se han realizado durante muchos años variados estudios farmacognósticos que nos permitan avalar razonablemente la utilización, aunque no siempre ha sido así.

En nuestro país, son muchas las plantas autóctonas que, luego de ser estudiadas, han ingresado al arsenal terapéutico y que, al presente, están a disposición del consumidor. Dentro de sus diversos usos podemos encontrar plantas que favorecen la digestión, anticonceptivas, analgésicas, cicatrizantes y antiinflamatorias. ^[1]

Las poblaciones de nuestros países se amparan cada vez más en el uso de la gran variedad de plantas con propiedades Medicinales, complementando o solucionando, en gran medida, sus problemas de salud, pues el acceso a los medicamentos convencionales resulta difícil o imposible por su elevado costo. ^[1]

El látex de los árboles amazónicos del género *Crotón*, especialmente *Crotón lechleri*, es usado en forma tradicional desde la antigüedad y en los tiempos modernos ha sido estudiado y se han demostrado sus propiedades medicinales como cicatrizante atribuidos a su conjunto de metabolitos secundarios como el alcaloide Taspina, así como una actividad antiviral, por el contenido del principio SP-303, una Proantocianidina oligomérica de acción antiviral y Lignanós Dehidrobenzofuranos.^{[18][26]}

Considerando los estudios químicos y farmacológicos realizados en nuestro país y el extranjero sobre esta planta, se ha encontrado reiteradas evidencias de su acción cicatrizante antiinflamatoria, por lo que es conveniente la aplicación bajo una forma farmacéutica de uso tópico en humanos.^[26]

En el campo de la práctica clínica se encuentra la cicatrización de los tejidos, proceso fisiológico que reviste gran importancia, el control de la inflamación y cicatrización de heridas constituye uno de los pilares para asegurar el éxito de cualquier tipo de tratamiento de esa índole. La cicatrización se favorece con el empleo de plantas con acción astringente (plantas con taninos), antiséptico y antiinflamatorio (plantas con taninos, mucílago, azuleno) o bien con aquellas que contienen sustancias como la alantoína o el asiaticósido y que favorecen la regeneración epitelial: Centella asiática, Milenrama, Manzanilla romana, Caléndula, Cola de caballo, Manzanilla común, Consuelda, Agrimonia, Zanahoria.^[1]

Entre las más conocidas y utilizadas está la popular planta cicatrizante conocida popularmente como "Sangre de Grado" proviene del género *Crotón* del cual existen en el Perú 56 especies de las cuales una de las más utilizadas es el *Crotón lechleri*.^[26]

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO METODOLOGICO

1.1. DESCRIPCION DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA:

Desde la antigüedad se comercializan diferentes formas farmacéuticas a base de plantas naturales, sus preparados obtenidos en forma de extractos, liofilizados, destilados, tinturas, cocimientos o cualquier otra preparación galénica con finalidad terapéutica, en la condición de fórmulas magistrales, preparados oficinales o medicamentos.

El Perú, es país megadiverso y posee una riqueza enorme de flora y fauna, que debe ser aprovechada en toda su dimensión, no solo debe ser abastecedor de esa materia prima, sino que se le debe dar el valor agregado, es decir, la materia prima transformarla en medicamento eficaz, seguro y de calidad. Para ello, se debe realizar investigaciones y desarrollar conocimientos en esta perspectiva, para que de esta manera proveer a nuestra población de ese bien social que es el medicamento con acción cicatrizante.

1.2. DELIMITACION DE LA INVESTIGACIÓN:

Delimitación Espacial; la recolección de la muestra se realizó en el Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto, ubicada entre los 106 a 220 msnm.

Delimitación Social; se busca presentar un gel que signifique una alternativa de tratamiento, efectivo y económico, no tóxico en la cicatrización de heridas o restauración de la epidermis.

Delimitación Temporal; el tiempo de estudio corresponde a los meses de Enero hasta Julio del 2014.

Delimitación Conceptual; las plantas medicinales (*Crotón lechleri* “Sangre de Grado”), crece en el Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto, se recolectó 10 ml

de látex de la corteza del árbol de 9 años con 1 mes para la utilizar como principio activo en la elaboración de los geles a diferentes concentraciones en el gel vehículo a base de Sepigel 305. Para luego ser aplicados en las heridas insicionales en piel de ratones albinos de 2 meses de edad, entre pesos de 23 a 25 gramos, en grupos tratamiento y grupos control (gel cicatriquiere), para determinar la actividad cicatrizante de la forma farmacéutica como gel, utilizando el dinamómetro (equipo de tensión con arena para generar la fuerza de tensión sobre la herida).

1.3. PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN:

1.3.1. Problema Principal:

¿Tendrá actividad cicatrizante el gel de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”?

1.3.2. Problemas Secundarios:

- ¿Tendrá actividad cicatrizante el gel al 0.5% de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”?
- ¿Tendrá actividad cicatrizante el gel al 1% de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”?
- ¿Tendrá actividad cicatrizante el gel al 2% de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”?

1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN:

1.4.1. Objetivo General:

- Determinar la actividad cicatrizante del gel de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”

1.4.2. Objetivos Específicos:

- Determinar la actividad cicatrizante del gel al 0.5% de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”
- Determinar la actividad cicatrizante del gel al 1% de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”
- Determinar la actividad cicatrizante del gel al 2% de *crotón lechleri* “Sangre de Grado”

1.5. HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN:

1.5.1. Hipótesis General:

- El gel de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” presenta actividad cicatrizante.

1.5.2. Hipótesis Secundarias:

- El gel al 0.5% de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” presenta actividad cicatrizante.

- El gel al 1% de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” presenta actividad cicatrizante.

- El gel al 2% de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” presenta actividad cicatrizante.

1.5.3. Variables (Definición Operacional):

Variable: Actividad Cicatrizante.

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

| Variable | Definición | Tipo de variable | Categorías | Medición |
|------------------------|---|-------------------------|--|-----------------|
| Actividad Cicatrizante | Capacidad de regeneración de tejidos de la dermis y epidermis | Cuantitativa de razón | Según clasificación (Geles: 0.5%, 1% y 2%) | Peso |

1.6. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN:

1.6.1. Tipo y Nivel de Investigación:

A. Tipo de Investigación:

- Experimental, Prospectivo y de Corte Transversal.

B. Nivel de Investigación:

- Básico y Descriptivo.

1.6.2. Método y Diseño de la Investigación:

a. Método de la investigación:

Este trabajo de acuerdo a la orientación e información requerida es básico, experimental y de corte transversal, para lo cual se utilizaron 15 ratones albinus para determinar la actividad cicatrizante del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” en la forma farmacéutica como gel.

b. Diseño de la Investigación:

La presente investigación muestra un diseño con Post prueba únicamente y grupo control de acuerdo al siguiente cuadro adjunto: ^{[28] [10][15]}

| | | |
|-----|---|----|
| RG1 | - | O1 |
| RG2 | X | O2 |
| RG3 | X | O3 |
| RG4 | X | O4 |
| RG5 | X | O5 |

Donde:

R: Asignación al azar o aleatoria

G: Grupos de sujetos (G1, grupo 1; G2, grupo 2; etc.)

X: Tratamiento, estímulo o condición experimental

O: Medición experimental

-: Ausencia de estímulo. Indica grupo control o testigo.

1.6.3. Población y Muestra de la investigación:

Población

Planta de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” que crece en la Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto, ubicada entre los 106 a 220 msnm.

Muestra

Se recolectó 10 ml de látex de la corteza del árbol de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”, de una edad de 9 años con 1 mes, se realizó en la Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto a partir de éste látex se elaboró el gel a las diferentes concentraciones 0.5%, 1% y 2%.

Referencia:

OECD. Guideline for testing of chemicals. Organización for economic cooperation and development. Guide No. 425, 2001. Up and down procedure. URL disponible en: <http://www.oecd.org> [fecha de acceso 10 diciembre 2006].

1.6.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos:

I. Técnicas:

a. Obtención del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”:

[10][26]

Se realizó incisiones oblicuas, en la corteza del árbol de edad 9 años con 1 mes, con un machete de acero inoxidable y se recogió el látex en un recipiente aséptico, posteriormente se vertió a un frasco de vidrio, previa colación con embudo, el cual fue transportado en una caja de tecnopor con bolsas de hielo. El látex se conservó en un recipiente de vidrio bien cerrado para evitar su

solidificación. Siguiendo los procedimientos de Amalia Domínguez.^[10]

b. Formulación de geles. ^{[11][13]}

Para la preparación de un lote de 100 g del gel elaborado a base de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” al 0.5%, 1 % y 2% partimos de la siguiente fórmula, siguiendo los procedimientos de Enrique Fernández. Manual de Formulación Magistral Dermatología. 1st ed. Madrid 1998, en la formulación de un gel base, el cual se basó en la normativa de la FDA. (Agencia de drogas y alimentos). URL disponible en: <http://www.fda.org> [fecha de acceso 20 octubre 2010].

| Principio activo y excipientes | 0.5 % | 1.0% | 2.0% |
|---------------------------------|--------|--------|-------|
| Látex de <i>Crotón lechleri</i> | 0.5 ml | 1 ml | 2 ml |
| Sepigel | 2 g | 2 g | 2 g |
| Propilenglicol | 15 ml | 15 ml | 15 ml |
| Alcohol Etilico (96%) | 15 ml | 15 ml | 15 ml |
| Agua Destilada csp. | 100 ml | 100 ml | 100ml |

Proceso de elaboración de geles:

1. En un vaso de precipitación de 100ml de capacidad se pesó 2 gramos de Sepigel usando la balanza analítica calibrada.
2. Se agregó 15 ml de propilenglicol y se agitó moderadamente hasta disolución completa.
3. Luego se agregó 15 ml de alcohol al 96% y se agitó hasta homogenizar.

4. Posteriormente se agregó poco a poco la cantidad de agua destilada correspondiente a cada formulación del gel.
5. Finalmente se agregó bajo agitación moderada 0.5 ml, 1ml y 2 ml del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” hasta disolución completa.
6. Se realizó el control organoléptico y la medición del pH de cada formulación. Anexo N° 10, 11
7. Se verificó el peso final del gel, se dejó en reposo hasta su enfriamiento en un ambiente aséptico, en sus respectivos envases previamente sanitizados.
8. Luego se procedió a envasar y etiquetar en potes de 20 gramos.

c. Control de calidad del producto terminado^[11]

Tuvo como propósito determinar si la forma farmacéutica posee atributos de calidad establecidas previamente, estos atributos buscan conseguir que los geles elaborados a base del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” cumplan el objetivo para el cual fueron fabricados de manera segura y eficaz. Anexo N° 10.

c.1. Determinaciones de las Características Organolépticas:

Se basó en los ensayos organolépticos utilizados para validar las características de los productos detectados por nuestros sentidos. Las determinaciones comprendieron: olor, color, aspecto, presencia de grumos y untuosidad al tacto.

Olor; con una tira de papel secante se introdujo en un extremo de la muestra de ensayo y a través del olfato se obtuvo el olor característico.

Color; en un tubo de ensayo limpio y seco con la muestra hasta la mitad del mismo, se observó el color, la transparencia, la presencia de partículas.

Aspecto; se tomó una pequeña cantidad de gel con una espátula y se observó las características de la muestra, verificando si existen algunas modificaciones macroscópicas en ellos.

Determinación de la presencia de grumos y untuosidad al tacto; Se tomó una pequeña cantidad del gel con la espátula y con los dedos se aplicó en el dorso de la mano con la finalidad de detectar presencia de grumos y adecuada untuosidad al tacto.

c.2. Determinación del pH:

Para determinar el pH se usó el método de potenciometría el cual se determinó por la diferencia de potencial entre dos electrodos que son inmersos en la muestra a analizar, para ello se usó el pHmetro.

Antes de su uso el instrumento fue calibrado con la solución buffer de pH conocido (7.2); luego se llevó con el botón de calibración al valor de pH de la solución de calibración, finalmente se colocó los electrodos limpios en la muestra a analizar y se anotó los resultados.

d. Metodología para determinar la actividad cicatrizante sobre lesiones inducidas en ratones *rattus rattus var. Albinus*^{[2][28]}:

Con el látex de *Crotón lechleri*, se prepararon geles al 0.5%, 1% y 2%, en una base bioadhesiva de Sepigel 305 al 2%. Se utilizó una capa delgada de gel, el cual se aplicó con un hisopo a cada uno de los ratones de cada grupo de las concentraciones 0.5%, 1% y 2%, y a los ratones para el control negativo (sin aplicación del gel) y 3 ratones para el control positivo con cicatriquiure.

d.1. Test de cicatrización^{[15][28]}:

Se fundamenta en la adición de la fuerza de tensión (medida en gramos), necesaria para abrir una herida de en toda su longitud producidas en el lomo de ratón. Se siguió modelo de referencia de Howes et al.^[15].

Para llevar a cabo este trabajo de experimentación se utilizó 15 ratones albinos de 2 meses de edad y con peso de 23- 25g, provenientes del bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, los cuales fueron distribuidos al azar en 5 grupos de 3 ratones: Los animales fueron acondicionados individualmente en cajas de plástico y mantenidos en condiciones ambientales normales (Temperatura 20°C, Humedad relativa 59,4%) y fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad por 48 horas alimentados en horas de la mañana y la tarde con dieta balanceada y agua clorada. Se utilizó el método de Vaisberg y col^[28].

d.1.1. Inducción de la herida^[28]:

Terminado los días de aclimatación, se procedió a realizar la depilación en la mitad de tercio superior del lomo (dorso del animal) de cada ratón, con crema depilatoria corporal veet, después de las 24 horas, al no observarse irritación en la piel, se procedió a realizar los cortes de 1 cm de longitud con la ayuda de un bisturí.

d.1.2. Administración del tratamiento^[28]:

Posteriormente se administraron los tratamientos cada 12 horas (mañana y noche), por vía tópica durante 7 días según cuadro adjunto. Anexo N° 12.

| GRUPO | DENOMINACIÓN | DIETA | TIPO AGUA | CANTIDAD RATONES | DURACIÓN TRATAMIENTO |
|-------|------------------|------------|-----------|------------------|----------------------|
| A | Control Negativo | Balanceada | Clorada | 3 | 7 días |
| B | Control Positivo | Balanceada | Clorada | 3 | 7 días |
| C | Gel al 0.5% | Balanceada | Clorada | 3 | 7 días |
| D | Gel al 1% | Balanceada | Clorada | 3 | 7 días |
| E | Gel al 2% | Balanceada | Clorada | 3 | 7 días |

Leyenda:

Al grupo A: (control negativo), ratón con herida, sin tratamiento.

Al grupo B: (control positivo), se administró vía tópica una capa delgada de crema dérmica referente cicatriquiure (producto comercial).

Al grupo C: Se administró una capa delgada de gel al 0.5% elaborado a base del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”.

Al grupo D: Se administró una capa delgada de gel al 1% elaborado a base del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”

Al grupo E: Se administró una capa delgada de gel al 2% elaborado a base del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”

e. Recolección de datos:^{[28][15]}

e.1. Procedimiento de laboratorio:

- ✓ Terminados los días de tratamiento, todos los animales fueron sacrificados por aplicación de 1ml (50mg) de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal a través de una jeringa de tuberculina.
- ✓ Luego se procedió a marcar el área de la cicatriz con plumón indeleble.
- ✓ Posteriormente se procedió a reabrir la herida cicatrizada en toda su longitud, para ello se fue agregando la cantidad necesaria de arena fina en gramos(g), para abrir cada herida cicatrizada con un dinamómetro(utilizándose arena fina en el dinamómetro, para generar la fuerza de tensión sobre la herida)^[15].

✓ Se procedió a registrar los datos.

f. Procedimiento de análisis de datos:^{[15][14]}

El análisis de datos se realizó por el programa SPSS versión 20.0 aplicando pruebas de estadística descriptiva y estadística inferencial paramétrica ANNOVA one way (un factor) y estudios post hoc (prueba de Tukey), la cual usó como variable numérica a la fuerza y como clasificador categórico de grupos a los tratamientos administrados.

g. Materiales, equipos, instrumentos y reactivos:^{[29][15][10][26]}

g.1. Materia Biológico:

- ✓ 10 ml de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”.
- ✓ 15 ratones *Rattus rattus var. albinus*.

g.2. Material para la recolección botánica:

- ✓ 01 machete de acero inoxidable con mango de madera.
- ✓ 01 recipiente aséptico de plástico.
- ✓ 01 Embudo de vidrio mediano.
- ✓ 01 frasco de vidrio de 10 ml de capacidad.
- ✓ 01 caja pequeña de tecnopor.
- ✓ 02 bolsas de hielo pequeñas.
- ✓ 02 pares de guantes quirúrgicos.
- ✓ 01 refrigeradora

g.3. Materiales para la elaboración de la forma farmacéutica:

- ✓ Sepigel 305 Q.P. (Densidad: 1.08 g/ml).

- ✓ Propilenglicol Q.P. (Densidad: 1.04 g/ml).
- ✓ Alcohol al 96%
- ✓ 03 vasos beackear de 100 ml de capacidad.
- ✓ 03 vasos de precipitación de 100 ml de capacidad.
- ✓ Agua destilada
- ✓ 01 Balanza Análitica Digital Marca OHAUS de 0.1mg de precisión.
- ✓ 01 espátula de manija de madera y cuerpo de acero inoxidable.
- ✓ 01 Varilla de vidrio.
- ✓ 01 bureta de 50 ml de capacidad.
- ✓ 03 envases de plástico de 20 g de capacidad.
- ✓ pHmetro Marca OHAUS.
- ✓ 03 etiquetas con la concentración y fecha de fabricación.

g.4. Materiales para el Test de Cicatrización:

- ✓ 05 bisturí
- ✓ Veet crema depilatoria corporal
- ✓ Agua destilada
- ✓ Gel cicatriquiure
- ✓ Geles 0.5%, 1% y 2%
- ✓ Alcohol antiséptico
- ✓ Pentobarbital Sódico (1ml)
- ✓ Guantes
- ✓ Gorro
- ✓ Algodón
- ✓ Hisopos
- ✓ Dinamómetro (equipo de tensión con arena)
- ✓ Arena fina

1.7. JUSTIFICACION, IMPORTANCIA Y LIMITACIONES DE LA INVESTIGACION:

a. JUSTIFICACION:

El presente trabajo de investigación, se realizó con la finalidad de buscar un producto natural que disminuya las complicaciones en el proceso de cicatrización de heridas. Ya que existen investigaciones realizadas en el Perú y el Extranjero que reportan estudios sobre la actividad cicatrizante del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”, considerando estos estudios tanto químicos y farmacológicos sobre esta planta y las reiteradas evidencias de su acción cicatrizante, por lo que se considera conveniente la aplicación bajo una forma farmacéutica de uso tópico como gel.

También se da por la necesidad diaria y creciente utilización de productos naturales en el tratamiento de diferentes tipos de enfermedades y además de elaborar productos extemporáneos que puedan satisfacer las necesidades de salud de la población, por ende se busca impulsar el uso de tratamientos naturales como el gel elaborado a base del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” y así usar nuevas alternativas terapéuticas efectivas y sin efectos colaterales en la salud, ya que en nuestro país no existe un plan estratégico que orienta la investigación y utilización en forma sistemática de los recursos vegetales que tengan como meta su incorporación definitiva al Programa de Salud.

En la actualidad la Organización Mundial de la Salud (OMS) es plenamente consciente de la importancia de las plantas medicinales para la salud de muchas personas en todo el mundo, como se indica en una serie de resoluciones adoptadas por la Asamblea Mundial de la Salud y el Comité Regional para el Pacífico Occidental. Así pues, las plantas medicinales han sido reconocidas como un valioso recurso y de fácil acceso para la atención primaria de salud, y la OMS ha apoyado su uso seguro y eficaz.

b. IMPORTANCIA:

Con el presente estudio de la actividad cicatrizante del gel elaborado a base del látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” se pretende usar dicha planta como una alternativa medicamentosa, que contribuya en la cicatrización de la piel favoreciendo su restauración completamente sin secuelas físicas, fisiológicas y psicológicas que las heridas pueden dejar en los seres humanos.

Con los resultados obtenidos se podrá dar mayor validación científica a trabajos de investigación anteriores que solamente observaron clínicamente la respuesta tisular de dichas plantas medicinales en diferentes grupos de poblaciones y con ello, incentivar la investigación de plantas medicinales y su utilización en el campo de la dermatología.

c. LIMITACIONES:

Se presentó diversos obstáculos durante el desarrollo del estudio, como las estaciones de recolección del látex, por la presencia de microorganismos en la corteza, como hongos y la falta de ambientes implementados en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas- Filial Huacho.

CAPITULO II: MARCO TEORICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION:

Antecedentes Internacionales:

Chen y Col. (1994) en Bélgica realizaron el estudio denominado “Estudio de las propiedades Antibacterianas, antitumorales y cicatrizantes de la Sangre de Grado” cuyo objetivo fue determinar las propiedades del látex, para ello realizaron tres ensayos in vivo para evaluar la citotoxicidad, actividad antibacteriana y el efecto sobre la proliferación de células endoteliales del látex del *Crotón lechleri* de Ecuador. Concluyeron que el látex resinoso no presento actividad citotóxica y que varios compuestos polifenólicos y diterpenos presentaron una potente actividad antibacteriana, también se determinó que el látex tiene poco efecto sobre la proliferación de células endoteliales y más de un ingrediente activo fue identificado.^[7]

Pieters y Col. (1993) realizaron el estudio denominado “Aislamiento del Lignanos Dihidrobenzofuranos proveniente de la Sangre de Grado Sudamericano (*Crotón spp*) como Inhibidores de la Proliferación Celular”, realizaron un fraccionamiento guiado por bioensayo, concluyendo que los lignanos como la 3-4-0-dimetilcedrusina, de la Sangre de Grado, serían capaces de preservar el tejido originario y estimula las células endoteliales. De hecho, muestras de látex que no presentan 3-4-0-dimetilcedrusina y con muy baja proporción de taspina han demostrado actividad cicatrizante.^[25]

Howes y Col. (1929) realizaron el estudio denominado “La curación de herida determinado por la fuerza tensible” cuyo objetivo fue la evaluación de la resistencia de las heridas en proceso de cicatrización concluyeron que todos los experimentos en cicatrización buscan agentes que aceleren el proceso de cicatrización, el cual puede durar desde 3 meses hasta varios años para alcanzar un 70 a 90% de resistencia a la tensión original de la piel intacta.^[15]

Antecedentes Nacionales:

Málaga y Col. (1991) realizaron el estudio denominado “Efecto del clorhidrato de taspina sobre la curación de úlcera gástrica inducida en ratones” cuyo objetivo fue demostrar el efecto cicatrizante de taspina presente en el látex y su posible mecanismo de acción en la curación de úlcera gástrica inducida por Indometacina en ratones, concluyeron que efecto cicatrizante se debería a la estimulación de la migración de fibroblastos. ^[17]

Vásquez y Col. (1992) realizaron el estudio denominado “Sistemática de las Plantas Medicinales de uso Frecuente en el área de Iquitos, en Folia Amazónica”, el objetivo fue identificar los usos más comunes de las plantas medicinales en Iquitos, concluyendo que la savia de las especies *C. lechleri*, *C. draconoides* y *C. erythrochylus* se emplean como cicatrizante, tanto en los trastornos de la piel como en las úlceras estomacales; también se aplica en lavados vaginales en el caso de inflamaciones de los órganos genitales femeninos.

Pérez y Col. (1998) en Lima – Perú realizaron el estudio denominado “Estudio botánico químico farmacológico de cuatro especies con actividad cicatrizante” cuyo objetivo fue determinar el efecto cicatrizante de los extractos vegetales de las cuatro especies en estudio, concluyendo que los extractos de Sangre de Grado presentan efectos cicatrizantes rápidos, al cabo de 6 horas, en todos los ratones a los que se le practicó una herida en la piel. ^[24]

Vaisberg y Col (1989) en Lima – Perú realizaron el estudio denominado “Taspina, cicatrizante presente en el extracto de *Crotón lechleri* Sangre de Grado” cuyo objetivo fue determinar en mecanismo de acción de la taspina en la cicatrización de heridas. Concluyeron que el alcaloide no era tóxico para los fibroblastos epidérmicos humanos y que carecía de efectos sobre la proliferación celular. ^[29]

Calderón y Col. (1995) realizaron el estudio denominado “Efecto de la Sangre de Grado (Savia del Crotón Palanostigma) en la cicatrización de heridas incisionales en piel de ratones”; el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación tópica de la sangre de grado en la cicatrización de heridas incisionales en piel de ratones normales y tratados con metilprednisolona. Los subgrupos experimentales (A2 y B2) recibieron tratamiento con pincelaciones tópicas con 0.4 ml de sangre de grado por dos minutos en forma diaria por siete días. Los subgrupos controles (A1 y B1) recibieron tratamiento con suero fisiológico de manera semejante. Se realizó una evaluación macroscópica en forma diaria en base a los siguientes parámetros: sangrado, herida, edema, secreción y costra total; fue cuantificada en número de días. Realizaron una prueba de resistencia a la tensión al séptimo día, la que fue cuantificada en gramos y una evaluación anatomopatológica al séptimo día en base a los siguientes parámetros: neoformación vascular, infiltrado de polimorfonucleares, linfocitos, monocitos, eosinófilos, congestión vascular, trombosis, colagenización y fibroblastos. Se concluyó que la aplicación tópica de la sangre de grado favorece los niveles de resistencia a la tensión, asimismo favorece la proliferación del tejido cicatricial en las heridas incisionales en piel de ratones normales y tratados con metilprednisolona. ^[3]

Milla y Col. (1985) realizaron el estudio denominado “Estudio sobre el Mecanismo de Acción del Principio Activo de la Sangre de Grado”; el objetivo fue determinar los eventos fisiológicos que intervienen en el mecanismo cicatrizante y la toxicidad del principio activo; para esto estudiaron los siguientes parámetros que interviene en el proceso de reparación: proliferación celular, migración de fibroblastos y contracción de heridas. Concluyeron que la taspina no muestra actividad de promoción de la proliferación celular actuando en cambio como inhibidor de la concentración de sistemas de fibroblastos colágeno. Además estimula en forma marcada la migración de fibroblastos de áreas confluyentes a vacías; además concluyen que la aplicación de la sangre de grado o taspina sigue una respuesta inflamatoria que sin embargo no interviene en el proceso de cicatrización al que finalmente cede paso. En cuanto a la acción citotóxica hallada a concentraciones de taspina cercanas a las que contiene en forma natural (sangre de Drago 300ng/ml) se llegó a las siguientes conclusiones: el

clorhidrato de taspina muestra un efecto letal en células a concentraciones por encima de 3000ng/ml, tóxicos entre 500-3000ng/ml y tóxico débil a menos de 500ng/ml; existe un efecto inhibitorio sobre la proliferación celular hasta 100ng/ml; la actividad se centra sobre los 2ng/ml +/- 1 orden de magnitud se señala que ha 1000ng/ml (concentración encontrada tóxica) hay hasta las 48 horas un índice mitótico sostenido normal y que ha mayor concentración de clorhidrato de taspina la eficacia contráctil es menor al rango de concentración probadas a 52 ng/ml.^[18]

Ubillas y Col. (1994) realizaron el estudio denominado “Proantocianidina oligomérica antiviral obtenida del látex de *Crotón lechleri* (Sangre de Grado)” cuyo objetivo fue aislar una protantocianidina, que denominaron SP-303 y demostrar la actividad contra una variedad de virus DNA y RNA. Concluyeron que en pruebas in vitro el producto ofreció una potente actividad contra cepas de virus respiratorio sincicial (RSV), virus A influenza (FLU_A) y virus parainfluenza (PIV). En ensayos paralelos de SP –303 y el fármaco “ribarvirin” demostraron una actividad comparable contra estos virus. El SP-303 igualmente exhibió una significativa acción inhibitoria contra el herpes virus (HSV) tipo 1 y 2, incluyendo el herpes virus resistente a los fármacos “acyclovir” y “foscamet”, también se observó inhibición contra los virus de la hepatitis A y B. Las pruebas realizadas en animales de laboratorio comprobaron los resultados obtenidos in vitro y demostraron además la ausencia de toxicidad. Últimamente se están realizando ensayos clínicos para evaluar el SP 303 como agente terapéutico antiviral.^[27]

López y Col. (1999) en Lima – Perú realizaron el estudio denominado “Elaboración de una Forma Farmacéutica de Aplicación con Efecto Cicatrizante a partir del Extracto Atomizado del Látex de Sangre de Grado”. El objetivo fue determinar el efecto cicatrizante de la Sangre de Grado aplicado en una forma farmacéutica adecuada. Obtuvo resultados positivos al comprobar el efecto cicatrizante de cremas y suspensiones alcohólicas de extracto atomizado de *Crotón lechleri* a diferentes concentraciones en animales de experimentación, concluyendo que la crema preparada al 1% y la suspensión elaborada al 2% de extracto atomizado de *Crotón lechleri*,

equivalente a un 5% y un 10 % del látex de *Crotón lechleri* puro presentan efecto cicatrizante.^[16]

Cárdenas y Col. (1994) en Lima – Perú realizaron el estudio denominado “Aplicación Clínica de la Sangre de Grado en el Tratamiento de la Gingivitis Crónica”, el objetivo fue demostrar que la sangre de grado es un tratamiento efectivo en la gingivitis crónica, concluyeron que después de la aplicación tópica de sangre de grado en el tratamiento de la gingivitis crónica, disminuye la gingivorragia y los signos de inflamación presentes en esta enfermedad, también se concluyó que la sangre de grado ejerce una acción favorable sobre los tejidos gingivales produciendo modificaciones histológicas que se reflejan en el aceleramiento del proceso de cicatrización por el incremento de fibroblastos, disminución de las células en forma de monocitos, disminución de las células plasmáticas.^[4]

Zaravia y Col. (1985) realizaron el estudio denominado “Reacción Antiinflamatoria del Tejido Conjuntivo a Cemento de Obturación de Conductos a Base de *Crotón lechleri* (Sangre de Grado)”; el objetivo fue estudiar la biocompatibilidad del cemento de obturación a base de "Sangre de Grado" y óxido de zinc, además evaluar la reacción inflamatoria del tejido conjuntivo al cabo de 24 horas, 7 días y 60 días en un modelo experimental en ratas de la cepa Holtzman. Observaciones histopatológicas, en las fechas indicadas les permitieron apreciar el comportamiento de dicho cemento al interactuar con el tejido conjuntivo, sobre el cual tomó contacto.^[30]

Caro y Col. (1985) realizaron el estudio denominado “Reacción del Tejido Subcutáneo a los Cementos de Obturación a Base de Bálsamo de Perú y Sangre de Grado en ratones suizos”; el objetivo fue examinar en ratones suizos la biocompatibilidad de los cementos de obturación a base de "Sangre de Grado" y "Bálsamo de Perú" implantados subcutáneamente en la región dorsal; concluyendo que el "Bálsamo de Perú" realiza una reacción inflamatoria mínima y un proceso de reparación óptima del tejido subcutáneo; mientras que el cemento a base de "Sangre de Grado" mostró mediana reacción inflamatoria, constituyéndose en segunda opción preferencial con relación al

Tubli Seal que sí produjo una reacción inflamatoria hasta un período de 60 días y una tardía reparación. ^[5]

2.2. BASES TEORICAS:

A. Herida^[8]:

Herida, desde el punto de vista conceptual, se define como traumatismo mecánico abierto. Es decir, una herida es el efecto producido por un agente externo que actúa de manera brusca sobre una parte de nuestro organismo, superando la resistencia de los tejidos sobre los que incide, produciendo una tortura de la superficie cutánea o mucosa, o por agentes internos, como un hueso fracturado. Desde el punto de vista práctico, una herida es una lesión caracterizada por una discontinuidad en el epitelio de revestimiento.

A.1. Clasificación de heridas:

Heridas Abiertas; en este tipo de heridas se observa la separación de los tejidos blandos. Son las más susceptibles a la contaminación.

Heridas Cerradas, son aquellas en las que no se observa a separación de los tejidos, generalmente son producidas por golpes; la hemorragia se acumula debajo de la piel (hematoma), en cavidades o en vísceras. Deben tratarse rápidamente porque pueden comprometer la función de un órgano o la circulación sanguínea.

Heridas Simples, son heridas que afectan la piel, sin ocasionar daño en órganos importantes.

B. Cicatrización ^{[8][12]}:

La cicatrización es un proceso natural que posee el cuerpo para regenerar los tejidos de la dermis y epidermis. Cuando una persona resulta herida (ruptura de un tejido intencional o accidental), tienen lugar una serie de complejos y fenómenos bioquímicos que se presentan para reparar el tejido dañado.

Estos fenómenos se superponen entre sí temporalmente y pueden ser divididos para su estudio en las siguientes fases: inflamatoria, proliferativa, y de remodelación.

Para entender mejor se definen estos términos:

Cicatriz, es la masa de tejido conjuntivo esencialmente fibroso revestido por la epidermis neoformada producida por el traumatismo.

Reparación, es la sustitución de los tejidos destruidos por un tejido conjuntivo neoformado.

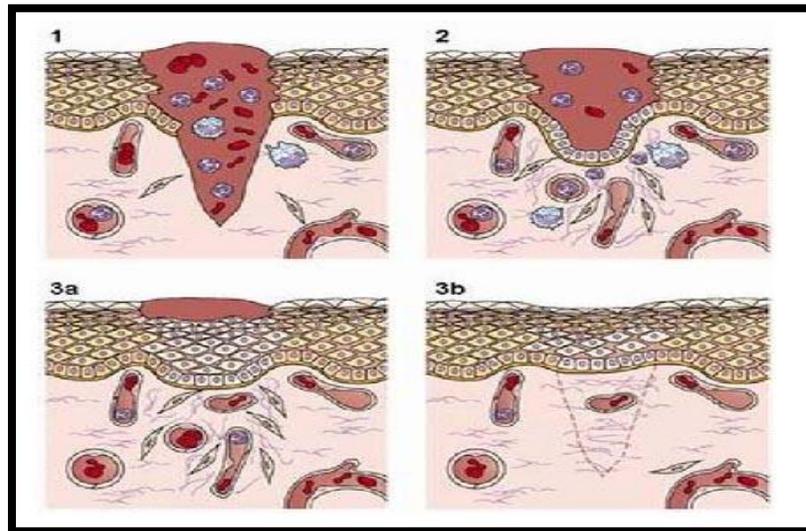
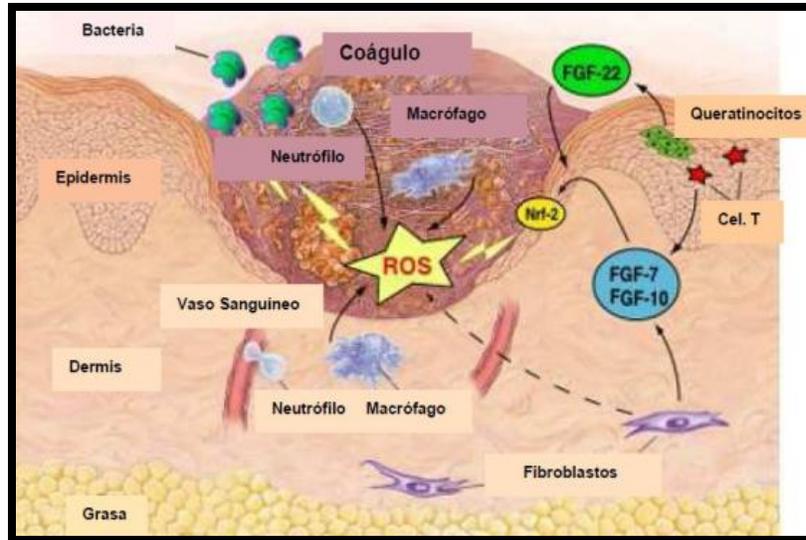
Regeneración, sustituye los tejidos por otros histológicamente semejantes, puede que la generación sea insuficiente o defectuosa, resultando así un proceso de cicatrización mixta.

Fuerza del tejido, se define como una capa de células con grado de especialización similar. Juntas llevan a cabo funciones especializadas. Los diferentes tipos de tejidos del cuerpo tienen distintas propiedades inherentes que determinan su función, así como fuerza y resistencia para romperse.

Fuerza de tensión, carga por unidad de área transversal en el punto de ruptura en relación con la naturaleza del material más que con su espesor. Fuerza de ruptura: carga requerida para producir una herida, independientemente de su dimensión es la medida clínica más significativa y además de la fuerza o peso necesario para abrir una herida.

B.1. Proceso de Cicatrización [8]:

Esto se lleva a cabo en tres fases distintas:



FUENTE: http://blog.utp.edu.co/cirugia/files/2011/07/biologiadelasheridasyelprocesodecicatrizacion_documento.pdf

FIGURA N° 1: DIAGRAMA ILUSTRATIVO DE LOS COMPONENTES DEL PROCESO CICATRIZACIÓN NORMAL DE LAS HERIDAS.

Fase I - Respuesta Inflamatoria:

La inflamación resultante de la migración de leucocitos y otros tipos de células mediadores químicos que interaccionan entre sí, ocurre en minutos, horas al área de la lesión causando edema localizado, dolor, fiebre y enrojecimiento alrededor de la herida. Es producido por la disminución en la oxigenación tisular.

La formación del coágulo sanguíneo en la herida taponan los vasos lesionados, que mantiene unidos, aunque de forma laxa, los bordes de la misma. Este coágulo está formado principalmente de una malla de fibrina, con plaquetas, glóbulos rojos, proteínas plasmáticas, células sanguíneas, y anticuerpos.

La vasodilatación y el aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos estimulan la salida de leucocitos llamados neutrófilos y monocitos (macrófagos).

Los leucocitos se degradan y los monocitos se convierten en macrófagos para eliminar restos celulares y fagocitar los microbios, material extraño, y las células mesenquimales de los bordes de la piel migran sobre la incisión para cerrar la superficie de la herida que se desarrollan a fibroblastos. Simultáneamente, los fibroblastos localizados en el tejido conjuntivo más profundo inician la reconstrucción del tejido no epitelial. Se forma una costra en la superficie para sellar la salida de líquidos y evitar invasión bacteriana.

Fase II- Migración:

Comienza en horas, días, y dura hasta semanas, el coágulo se convierte en costra, los fibroblastos (células de tejido fibroso) migran por debajo de ella para cubrir la herida. Con las enzimas de la sangre y de las células del tejido circundante, los fibroblastos forman colágeno y sustancia fundamental (fibrina, fibronectina). Estas sustancias adhieren los fibroblastos al sustrato. Los

fibroblastos contienen miofibroblastos con características de músculo liso que contribuyen a la contracción de la herida. El depósito de colágeno empieza aproximadamente el quinto día y aumenta rápidamente la fuerza de tensión de la herida.

Las proteínas plasmáticas favorecen las actividades celulares esenciales para la síntesis de tejido fibroso durante esta fase de cicatrización. Además de la síntesis de colágeno, se reemplazan otros componentes dañados del tejido conjuntivo. Los vasos linfáticos se recanalizan, los vasos sanguíneos forman yemas, se forma tejido de granulación y se desarrollan numerosos capilares para nutrir los fibroblastos.

Fase III Proliferación:

Se caracteriza por una gran proliferación de las células epiteliales debajo de la costra, la creación de una barrera permeable (reepitelización). Es caracterizada por angiogénesis, es decir, se restablece el suministro de sangre y oxígeno, depósito de colágeno, formación de nuevos vasos sanguíneos crecen a partir de las células endoteliales. En la formación de tejido de granulación y epitelización, los fibroblastos crecen y forman una nueva matriz extracelular por excretar colágeno y fibronectina y ácido hialurónico, lo cual se relaciona con la fuerza de tensión del sitio.

Fase IV- Maduración o Remodelación:

Empieza en semanas y va hasta meses, incluso años. La costra se desprende cuando la epidermis ha recuperado su grosor normal. Las fibras de colágeno comienza a organizarse, los fibroblastos disminuyen en número y los vasos sanguíneos recuperan la normalidad.

La fuerza de tensión continúa aumentando hasta un año después de la cirugía. La piel solo se recupera de 70% a 90% de su fuerza de tensión original, el

contenido de colágeno permanece constante, pero la fuerza de tensión aumenta debido a la formación y entrecruzamiento de las fibras colágenas. El depósito de tejido conjuntivo fibroso tiene como resultado la formación de cicatriz.

En la cicatrización normal ocurre contracción de la herida en un periodo de semanas y meses. Al aumentar la densidad colágena disminuye la formación de vasos sanguíneos nuevos y el tejido cicatricial se vuelve pálido.

Por tanto los fibroblastos y sus productos, como el colágeno y las metaloproteinasas y los vasos sanguíneos, son los principales elementos en la maduración de las heridas.

La cicatriz, a medida que madura, se torna menos rojiza debido a que disminuye la densidad de capilares. Así, muchos de los vasos sanguíneos formados durante la fase proliferativa se desintegran como resultado de un fenómeno de apoptosis. Esta muerte celular programada está probablemente regulada por una variedad de moléculas de la matriz como las trombospondinas 1 y 2, y diversos factores antiangiogénicos, como la angiostatina, la endostatina y la angioopoyetina 2. Asimismo, disminuye el número de fibroblastos y es característica la ausencia de apéndices cutáneos. Se especula que la ausencia de pelo en las cicatrices se debe a que en el tejido cicatricial no se reproduce el microambiente o nicho necesario para que viva la célula madre responsable de la formación de estos apéndices.

La síntesis y remodelación de la matriz extracelular se inicia por la formación y degradación de colágeno tipo IV a colágeno tipo III, la cual es la principal proteína que prevee estructura, fuerza y rigidez de la dermis y finalmente son sustituidos por colágeno tipo I para formar una cicatriz permanente.

B.2. Células que intervienen en la Cicatrización ^[12]:

Hematíes o Eritrocitos; aportan oxígeno y elimina el CO₂.

Plaquetas o Trombocitos; inician el proceso de la coagulación de la sangre. Además producen importantes factores de crecimiento necesarios para la cicatrización.

Leucocitos; tienen como función fundamental la defensa inmunológica

Granulocitos y Linfocitos, tienen esencial importancia en el proceso de la cicatrización. Son atraídos por sustancias liberadas en la multiplicación bacteriana (quimiotaxis). Además, los linfocitos segregan otras sustancias que atacan la superficie de las bacterias, preparándolas para ser dirigidas por los fagocitos.

Monocitos o Fagocitos; son leucocitos especializados que ingieren y destruyen material muerto o extraño. Se transforman en macrófagos, además de producir enzimas y factores de crecimiento. Estos solo se encuentran en el tejido.

Macrófagos; aumentan con el trauma y son atraídos por medio de mensajeros químicos de la inflamación. Son los principales productores de factores de crecimiento, junto con los monocitos.

Fibroblastos; son células responsables de síntesis de colágeno y de la contracción del tejido cicatricial (miofibroblastos). Proliferan a la herida, aumentando la cantidad de proteínas dérmicas y matriz (fibrina, fibronectina)

B.3. Tipos de cicatrización ^[12]:

Existen 3 maneras de cicatrización según el tiempo transcurrido desde la lesión, grado de contaminación y de desvitalización tisular esta clasificación dirige la elección del método de cierre.

B.3.1. Cierre Primario (Primera Intención):

En este caso la herida o incisión solo causa alteración local de la continuidad de la membrana basal epitelial y muerte relativamente de las células epiteliales y del tejido conectivo, el espacio de la herida es pequeño. Generalmente se observa en las heridas operatorias y las heridas incisivas, es decir en cortes relativamente limpios con mínima contaminación y mínima pérdida o desvitalización tisular. La reparación es óptima cuando se lleva a cabo en el plazo de 6- 8 horas desde la lesión. En la práctica este periodo varía dependiendo de grado de contaminación entre 6- 24 horas. Este proceso requiere de las siguientes condiciones: ausencia de infección de la herida; hemostasia perfecta; afrontamiento correcto de sus bordes; ajuste por planos anatómicos de la herida durante la sutura.

B.3.2. Cierre Secundario (Segunda Intención):

Esta ocurre en forma lenta, tiene mayor volumen y la reacción inflamatoria es más intensa, aparece una cantidad mucho mayor de un tejido de granulación para llenar el espacio de la lesión y se produce mayor masa de tejido cicatrizal. La herida cicatriza desde las capas profundas y desde sus bordes, dejando como vestigio una cicatriz larga, retraída y antiestética. Por lo general ocurre cuando hay pérdida de sustancias o dificultad para afrontar los bordes de una herida o también cuando existe un compromiso infeccioso en la herida.

B.3.3. Cierre Terciario (Tercera Intención):

También llamada cierre primario diferido, la cicatrización por tercera intención ocurre cuando dos superficies de tejido de granulación son aproximadas con una sutura secundaria. Este es un método seguro de reparación de las heridas contaminadas, así como de las heridas sucias e infectadas y traumatizadas, con pérdida extensas de tejido y riesgo

elevado de infección. Este método se ha utilizado extensamente en el campo militar y ha probado que tiene éxito después de un trauma excesivo relacionado con accidentes automovilísticos, incidentes con armas de fuego, o heridas profundas y penetrantes con cuchillos.

La herida abierta en cicatrización recupera gradualmente la suficiente resistencia a la infección que le permite un cierre no complicado. Generalmente esto se lleva a cabo cuatro o seis días después de la lesión.

Este proceso se caracteriza por el desarrollo de yemas capilares y tejido de granulación. Cuando se lleva a cabo el cierre, los bordes de la piel y el tejido subyacente deben aproximarse y asegurarse con precisión.

B.4. Factores que Alteran la Cicatrización ^[12]:

Los pacientes con deficiencia inmunológica tienen cicatrización anormal; las células que participan en la fase inflamatoria están influidas por agentes inmunosupresores, como lo están también por factores de crecimiento y por citosinas.

Medicamentos como los corticosteroides realizan una inhibición global del proceso inflamatorio. Disminuye la síntesis de colágeno, actividad de los fibroblastos, neovascularización y reepitelización; medicamentos citotóxicos inhiben la proliferación celular, que es un factor primordial de la cicatrización; anticoagulantes (heparina, warfarina), aumenta la probabilidad de formación de hematoma en la herida, retrasan o imposibilitan la formación del coagulo que es el responsable de acabar con la hemorragia inicial de la herida.

Raza, las cicatrices en pacientes de raza negra son más propensas a la hipertrofia que en los blancos; entre la raza blanca, los individuos rubio tienen probabilidades de cura con mejores cicatrices que los morenos. Se observa

mayor tendencia a la hiperpigmentación después de la abrasión dérmica, sea accidental o quirúrgica.

Edad, en los ancianos produce una disminución de la función pulmonar y cardiovascular resulta disminución de la circulación y la provisión de oxígeno, por lo que disminuye el crecimiento de los fibroblastos y la producción de colágeno. La piel se vuelve delgada por la pérdida de elasticidad y tonicidad de los tejidos.

Nutrición, para ello en la dieta deben encontrarse aminoácidos, ciertos cofactores vitamínicos y proteína. La deficiencia de proteínas puede reducir los procesos de angiogénesis, síntesis de colágeno, multiplicación celular y remodelación de las heridas. Así mismo, diversos minerales son importantes para la cicatrización; así como el zinc es cofactor en la síntesis de proteínas y en la proliferación celular. Una buena nutrición supone la incorporación de vitaminas que favorecen el proceso de cicatrización como por ejemplo la vitamina A estimula la síntesis de colágeno y la epitelización; la vitamina B, entre ellas la tiamina, riboflavina y piridoxamina, son cofactores par el enlace de las fibras colágenas; la vitamina K es necesaria para la síntesis de factores de coagulación II, VII, IX y X. Su deficiencia se acompaña de hemorragia y de mala cicatrización.

Tensión del oxígeno, para evitar una isquemia, ayuda a la migración y proliferación celular, metabolismo intermediario, síntesis proteica, síntesis de colágeno.

Diabetes, tienen una mayor probabilidad de infección de la herida, retraso en la neovascularización y síntesis de colágeno.

Infección, una herida está infectada si contiene más de 105 bacterias por gramo de tejido y se caracteriza por la presencia de uno o más siguientes síntomas: dolor, edema, calor, eritema, cambio de color del exudado, olor característico, secreción purulenta, aumento de la temperatura corporal y leucocitosis.

C. Formas Farmacéuticas Semisólidas ^{[13][29]}:

Son preparaciones de consistencia semisólida destinadas a ser aplicadas sobre la piel o sobre ciertas mucosas con el fin de ejercer una acción local o dar lugar a la penetración percutánea de principios activos; o por su propia acción emoliente o protectora.

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

C.1. Geles ^{[13][29]}:

Son vehículos sin grasas, constituidos por materiales que, por si mismos o en presencia de agua, adquieren consistencia y son útiles como excipientes para la aplicación de fármacos sobre la piel.

No poseen capacidad oclusiva y no favorecen, por si mismos, la penetración de fármacos. Las ventajas residen en su favorable acción sobre los tejidos y su fácil eliminación por lavado. Sin embargo presentan algunos inconvenientes: se deshidratan con pérdida de textura original, y la necesidad de adicionar conservantes que garanticen al grado de pureza microbiana.

Desde el punto de vista físico-químico los geles se definen como sistemas dispersos, coloides, transparentes, uniformes; que constan de dos componentes, de estos uno líquido y actúa como agente dispersante y el otro es sólido un componente generador de estructura. Está estabilizada la parte formando una red tridimensional. Destinados a aplicarse sobre las membranas mucosas, no tienen poder de penetración, por eso se utiliza para ejercer acción tópica (de superficie). El estado semisólido es debido al aumento de

viscosidad causado por entrelazamiento y por la consecuente alta fricción interna. Las sustancias gelificantes absorben agua y se hinchan.

Este grupo llamado también “base de pomada sin grasa” está comprendido de constituyentes de bases hidrosolubles. El ungüento de polietilenglicol es la única preparación farmacéutica en este grupo. Estos tipos de bases a menudo son más avanzadas de las bases agua-lavables y, además, no contiene ninguna sustancia agua-insoluble como el petrolato, grasa de lana refinada o ceras, ellos se llaman más correctamente geles.

C.1.1. Ventajas y Desventajas de los Geles:

C.1.1.1. Ventajas:

- Son bien tolerados
- Fácilmente lavables
- Producen frescor

C.1.1.2. Desventajas:

- Incompatibilidad con numerosos principios activos
- Tendencia a la desecación
- Bajo poder de penetración (en tratamientos superficiales)

C.1.2. Clasificación de Geles ^[13] ^[29]:

C.1.2.1. Dependiendo de su Composición frente al Agua:

C.1.2.1.1. Geles lipófilos (oleo-geles) son preparaciones cuyas bases están constituidas por parafina líquida con polietileno o por aceites grasos gelificados con sílice coloidal o por jabones de aluminio o zinc.

C.1.2.1.2. Geles hidrófilos (hidrogeles) son preparaciones cuyas bases generalmente son agua, glicerol y propilenglicol gelificado con ayuda de agentes gelificantes apropiados tales como almidón, derivados de la celulosa, carbomeros y silicatos de magnesio y aluminio.

C.1.2.2. Según el Número de Fases en que están Constituidos:

C.1.2.2.1. Geles monofásicos, el medio líquido lo constituye una sola fase o líquidos miscibles; agua- alcohol, solución hidroalcohólica, aceite, etc.

C.1.2.2.2. Geles bifásicos, constituidos por dos fases líquidas inmiscibles, formando una estructura transparente con propiedades de semisólido.

C.1.2.3. Clasificación de Geles por su Viscosidad:

- Geles fluidos
- Geles semisólidos
- Geles sólidos

C.1.2.4. Clasificación de los Geles por su Estructura:

Elásticos, un gel típico elástico es el de la gelatina, se obtiene por enfriamiento del sol liófilo que resulta cuando se calienta esta sustancia con agua. Otros soles dan geles elásticos, por ejemplo: agar, almidón, pectina, siempre que no sean demasiado diluidos. El gel elástico por hidratación se regenera.

No elásticos, el más conocido el gel de sílice. Se obtiene mezclando soluciones de silicato de sodio con ácido clorhídrico en concentraciones apropiadas. Un gel no elástico se hace vítreo o se pulveriza y pierde su elasticidad por secado. Los

geles no elásticos no tienen hinchamiento, puede tomar líquido sin cambio de volumen.

C.1.3. Productos Gelificantes:

Se pueden clasificar de la siguiente manera:

- Polímeros que dan lugar a un gel dependiente del pH del medio
- Polímeros que dan lugar a un gel por sí mismo, independiente del pH del medio

Los primeros dan lugar a soluciones ácidas que al neutralizar con las bases adecuadas, aumentan la viscosidad y disminuyen la turbidez del medio. Ejemplo el carbomer, cuyo mecanismo por el cual se forma el gel es el siguiente:

A bajos valores de pH, se disocia una pequeña proporción de grupos carboxílicos del polímero, formando una espiral flexible. La adición de una base produce la disociación de grupos carboxílicos, ionizándose, creando repulsión electrostática entre las regiones cargadas, expandiéndose la molécula, haciendo más rígido el sistema, gelificándolo. Se pasa de una estructura espiralada a una desenrollada o extendida.

Los segundos no precisan ser neutralizados para la formación del gel, gelifican por sí mismo, se forman puentes de hidrogeno entre el solvente y los grupos carboxílicos del polímero. Ejemplo: Sepigel 305.

C.1.4. Importancia ^[29]

En el diseño de un gel es indispensable seleccionar la formulación que presente características organolépticas y reológicas idóneas para su administración tópica y facilidad de usar. Este debe ser:

Estado semisólido o fluida:

- Aspecto puede ser transparente o turbio
- Presenta una estructura de tipo continua fácil aplicación
- PH que se encuentra entre 4.5- 8.5

Formulación ^{[1][13][29]}:

Comprende a los principios activos y excipientes quienes dan como resultado una forma farmacéutica.

La formulación implica la realización de diferentes estudios destinados a conocer la pureza, solubilidad, capacidad de absorción, estabilidad, compatibilidad con excipiente y otras propiedades específicas de la forma farmacéutica.

Es la mezcla de determinadas proporciones e ingredientes en orden específico hasta alcanzar ciertas condiciones finales propias del producto en estudio, para lo cual se debe conocer las características de cada uno de los ingredientes.

Excipientes ^{[13][29]}:

El principal papel del excipiente es de servir de soporte al principio activo (P.A) que se desea aplicar sobre la piel, aunque el excipiente podría influir en la penetración del principio activo hacia lugares más o menos profundos situados por debajo de la zona de aplicación y contribuir de este modo en la eficacia del preparado.

En otros casos el excipiente contribuye a mantener las características físicas y químicas de la piel normal (grado de humedad, pH), mejorando así su mecanismo de defensa.

Son diversas las circunstancias que condicionan la selección del excipiente, entre ellas:

- La consistencia deben se tal que permita una aplicación fácil.
- Debe tolerarse bien y poseer mínimo poder alérgico
- Debe facilitar la penetración de los principios activos en la superficie de la piel.
- Deben tener elegante presentación aunque no ha de sacrificarse la efectividad terapéutica por la elegancia ha de conservarse microbiológicamente bien y ser estable desde el punto de vista químico.
- Salvo que el preparado exija otras condiciones, el excipiente debe ser lavable y no ha de manchar la ropa.

Si la fórmula contiene drogas activas insolubles, el excipiente debe integrarse con agentes adecuados que facilitan la disminución de tamaño de los mismos mediante la trituración inicial previa a la incorporación del resto del excipiente.

También la elección depende del efecto terapéutico deseado.

D. Control de calidad ^[29]:

Según el concepto actual, se busca sobre todo controles de calidad en las distintas fases de la elaboración de formas farmacéuticas: control de materias primas y materiales de acondicionamiento, control en el proceso y control en el producto terminado. Si los diferentes controles resultan correctos, se estima que la calidad del producto final es aceptable. Este concepto abarca, además de controles de calidad básicos, el operar de acuerdo a normas que disminuyen el riesgo de errores en la elaboración de medicamentos y garantizar la obtención de un producto final con la calidad prevista durante el tiempo de validez establecido en el material de acondicionamiento.

Para conseguir un adecuado aseguramiento de calidad, se ha establecido normas que ya estan vigentes en la industria farmacéutica.

D.1. Estabilidad ^[13]:

TIPOS DE ESTABILIDAD DE UN PRODUCTO FARMACÉUTICO

| TIPO DE ESTUDIO | CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO | PERIODO MÍNIMO | FRECUENCIA DE ANÁLISIS |
|---------------------------|-------------------------------|----------------|------------------------|
| Estabilidad acelerada | 30°C ± 2°C/65% ± 5% HR | 6 meses | 0, 3 y 6 meses |
| Estabilidad a largo plazo | 30°C ± 2°C/65% ± 5% HR | 12 meses | 0, 3, 6 y 12 meses |

ENSAYOS GENERALES PARA FORMAS FARMACÉUTICAS SEMISÓLIDAS

| ENSAYOS GENERALES | GEL, CREMA Y UNGÜENTO TÓPICO |
|-----------------------------------|------------------------------|
| Aspecto | Si |
| Viscosidad | Si |
| Extensibilidad | Si |
| Valoración | Si |
| pH | Si |
| Material Particulado | N.A |
| Esterilidad (inicial y final) | N.A |
| Límite microbiano(inicio y final) | Si |

E. Medicina natural

El Programa de Medicina Tradicional de la OMS propone como definición de Medicina Natural o Tradicional: La suma de conocimientos, habilidades, y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias, originaria de distintas culturas, sea explicable o no, utilizada para el mantenimiento de la salud, así como en la prevención y diagnóstico.^[9]

La medicina naturista es la parte de la medicina, que utiliza los elementos de la naturaleza como el agua, tierra, plantas para prevenir y reparar la salud de posibles enfermedades, usando también para este fin una nutrición natural en base a vegetales y en general alimentos naturales.^[6]

Este nuevo campo de la medicina ha venido desarrollando, a través del tiempo y de estudios realizados en muchos países, distintas técnicas útiles para solucionar problemas de salud, sin que hasta el momento se haya considerado dentro de la formación específica del médico. Hasta ahora, la medicina naturista ha quedado relegada a remedios caseros, medicina folklórica.^[23]

En un estudio sobre el uso de la medicina no convencional, publicado en Estados Unidos, se señala que una tercera parte de los pacientes utilizan tratamientos no convencionales para curar heridas, tratar enfermedades o como simples métodos de relajación, esto incluye ejercicios físicos, una dieta especial y la fototerapia para tratar las enfermedades.^[23]

El auge de la medicina naturista en el mundo va en aumento, siendo usada en muchos países tanto desarrollados como subdesarrollados. Según encuestas realizadas por Demoskopische Institut Allensbach, en Alemania dos de cada tres pacientes prefieren utilizar tratamientos naturales para sus problemas de salud. En Francia, un 75% de franceses reconocen haber utilizado esta medicina de forma complementaria al menos una vez y un 75% de las clínicas y centros sanitarios ofrecen técnicas de medicina naturista. Si bien es cierto aún falta mucho más que

descubrir en este campo, organizaciones como la OMS, ya han empezado a establecer políticas que regulen y establezcan controles de seguridad sobre medicina natural y alternativa, aprobando tratamientos en base a criterios de seguridad y eficacia. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce la importancia de garantizar la calidad de estos productos y de promover su aceptación terapéutica en la sociedad, pero advierte el elevado riesgo para la salud si no son usados correctamente. ^[23]

F. Plantas Medicinales ^[9]:

Es según la definición de la OMS, “Toda especie vegetal en la que el todo, o una parte de la misma, está dotado de actividad farmacológica”.

Los avances tecnológicos que revolucionaron la farmacología, a mediados del siglo XIX, corresponden a avances tecnológicos que permitieron aislar los principios activos de las plantas farmacológicamente más activas, belladona, opio, quina, etc. Después de ello durante mucho tiempo estudios farmacognósticos de las plantas utilizadas que nos permitían avalar razonablemente su utilización.

G. *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”:

G.1. Clasificación Sistémica de la Planta ^[22]

Según el sistema de clasificación de J. Mostacero (1993), la especie de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”, se ubica en la siguiente categoría taxonómica.

División: Angiospermas

Clase: Dicotiledoneas

Orden: Geraniales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Crotón*

Especie: *C. lechleri*, *C. draconoides*, *C. palanostigma*.

Nombre vulgar: “sangre de grado”, “sangre de drago”, “palo de grado”, “sangre de palo”, “sangre de dragón”, “Huampo”, “topa roja”, “sangre del árbol”, “sangrado”, etc.; dependiendo de la zona geográfica y de los grupos étnicos.^{[21][26]}

G.2. Descripción Botánica ^{[22][26]}:

Es un árbol de copa amplia, que alcanza los 10-25 m de altura, raíz cilíndrica cónica, axomorfa con raíz principal más desarrollada que las secundarias, peridermis constituido por súber o corcho. La corteza externa del tallo de color grisáceo- blanquecino, posee abundantes lenticelas y el látex que presenta es de color rojo oscuro de varias tonalidades. Hojas simples con dos glándulas en la base, alternas, a veces opuestas de 12-20cm de largo por 15-20cm de ancho, las hojas más tiernas de color blanco- rojizo y con abundante indumento, tormentosa en ambos lados, glabrescente y estelado. Inflorescencia terminal en racimos laxos de color ámbar. Fruto capsular globoso de 3mm de largo por 4.5mm de ancho. Semillas lisas con carúncula y endosperma oleaginoso.

G.3. Hábitat y Distribución ^{[22][26]}:

Árbol originario de las regiones templadas de Sudamérica, localizada principalmente en el Perú, Bolivia, Colombia, Ecuador y Brasil. También se ha localizado en África, creciendo en estado silvestre en las cumbres montañosas y regiones selváticas; especialmente bosques húmedos. ^[22]

En el Perú se encuentra distribuido en la región Amazónica, en un rango de altitud de 200-1660 msnm; en los Departamentos de: Amazonas, Cusco, Huánuco, Junín, San Martín, Madre de Dios y Loreto. En los valles de Oxapampa, Entaz, Cacazú y Palcazú del Departamento de Pasco. ^[27]

G.4. Bioagricultura ^[26]:

Requiere de suelo arcilloso y areno-arcilloso, dependiendo de la fertilidad del suelo, el distanciamiento de siembra puede ser 5x5m a 10x10m. se propaga mediante la semilla botánica y rebrotes. La germinación de la semilla ocurre entre 10-14 días con un porcentaje de germinación en el orden del 80%. El trasplante a campo definitivo se realiza cuando el plantón alcanza 20cm de altura.

La cosecha del látex a nivel comercial es necesariamente de árboles grandes. A partir del séptimo u octavo año, para lo cual se tumba al árbol seleccionado y se colecta el látex realizando incisiones en la corteza del tronco en sentido de izquierda a derecha en forma oblicua.

La mayor abundancia del exudado obtenido dependerá principalmente de los siguientes factores, expuestos por orden de importancia: diámetro del árbol (a medida que aumenta el diámetro se incrementa la producción de látex); existencia de cortes previos en la corteza del árbol; hora de recolección durante el día (el látex fluye con mayor intensidad durante las primeras horas de la mañana); presencia temporal de agua en el suelo; hábitat de la planta; fase lunar (la fase lunar más adecuada es la luna llena) y características intrínsecas de la planta.

Para empleo familiar inmediato no es necesario tener en consideración casi ningún factor.

G.5. Obtención del Látex ^{[10] [26]}:

El proceso de obtención de la sangre de grado se denomina sangrado. El látex brota al efectuar incisiones en la corteza del tronco. Existen dos tipos de recolección de la sangre de grado, uno utilizado tradicionalmente cuando el

látex va destinado a uso familiar, pero también con finalidad comercial, y otro que a sido utilizado solamente si el destino es comercial.

En el primer caso, se efectúan incisiones oblicuas, en espiral o en V, en la corteza con un machete o se rasga un trozo de la misma y se recoge el exudado en recipientes. En algunas zonas la herramienta que se utiliza para sangrar el árbol se denomina rasqueta (por ejemplo, en las zonas de los grupos étnicos: Llanea, Ashaninka, Aguauna y Huambisa) y es el mismo utensilio usado para la obtención del caucho.

Suelen efectuarse sangrados periódicos del mismo árbol. El látex debe conservarse en recipientes bien cerrados, para evitar su solidificación. Para comprobar su autenticidad Loján propone frotar el látex sobre la piel, debiendo dar color blanquecino.

La segunda modalidad ha sido utilizada solamente para recolección industrial y es poco respetuosa con el medio ya que se abate el árbol. En esta modalidad, se localiza un árbol de características idóneas, con tronco de diámetro mayor de 35 cm, largo y, en lo posible, sin rasgados previo en la corteza. Se eliminan las lianas, musgos y otros vegetales de la corteza. Es necesario preparar un soporte donde caerá el árbol, y también se realiza un canal para recoger el látex, con hojas de plátano. Para tumbar el árbol se utiliza un hacha y se dirige la caída del árbol hacia el soporte previamente preparado y la copa en la parte más baja, posición que facilita el sangrado y el látex discurre en la dirección de la pendiente. Se coloca el canal debajo del tronco, también de forma inclinada, que lleva el látex a un recipiente de recogida. Las incisiones en la corteza se efectúan a una distancia promedio de 20 cm. De la parte inferior del árbol, aquella que queda en pie tras tumbar el resto, también se obtiene látex. En esta zona, con ayuda de un machete, se levanta cuidadosamente un pedazo de corteza, y con ayuda de la rasqueta se realizan los cortes para el sangrado.

Adicionalmente, existen otras modalidades similares de cosecha de látex en los que el canal de vaina de hoja de plátano se sustituye por una tela plástica o por varios recipientes que se van colocando en cada lugar de sangrado.

El rendimiento del látex varía según la técnica utilizada. Cuando se extrae a base de cortes con machete el rendimiento es de unos 30ml y permite recolecciones periódicas. Sin embargo, cuando se recolecta con la técnica de rasgado de corteza se obtiene alrededor de 1 litro y con el árbol tumbado hasta más de 4 litros.

G.6. Características del látex de *Crotón lechleri* ^{[10][27]}:

El látex presenta un aspecto similar al de la sangre humana y algunas propiedades físicas son comunes entre sí. Es una sustancia líquida de color rojo sangre, ligeramente densa y de gran viscosidad; al tacto con el aire, la luz solar se endurece y cristaliza rápidamente, dejando mancha apreciable en el sitio de aplicación; al ser agitada o friccionada sobre la piel, deja abundante espuma; tiene un gran poder de adhesión; su olor es agradable; sabor amargo; no es miscible en agua, pero sí en alcohol a temperatura ambiente, siendo su punto de ebullición 91°C y el de congelación 0°C. No es inflamable.

G.7. Mecanismos de acción del látex de *Crotón lechleri*: ^{[22][26]}

Existen varios estudios sobre el mecanismo de acción ejercido por el látex de Sangre de Grado, debido a su conjunto de metabolitos que presenta y que se ha demostrado que el látex total es cuatro veces más activo y efectivo como cicatrizante en heridas que sus componentes aislados.

La sangre de drago estimula in vitro la contracción de la herida, ayuda en la formación de la costra y regenera rápidamente la piel ayudando a la formación de colágeno. A esta acción contribuyen la taspina, la 3'-4-O-dimetilcedrusina y los polifenoles (catequinas y proantocianidinas).

Los polifenoles juegan un papel importante en la acción cicatrizante del látex, probablemente debido a la acción secuestradora de radicales libres. Estos compuestos fenólicos se unen a una variedad de biomacromoléculas tales como proteínas celulares y enzimas, llevándolas a precipitación formando una costra oscura espesa y resistente que cubre la herida.

La taspina promueve las fases tempranas de la curación de una herida y su mecanismo de acción podría estar relacionado con la estimulación de la quimiotaxis de fibroblastos y producción de tejido cicatrizante.

El lignano 3'-4-O-dimetilcedrusina también interviene en la acción de curación de heridas, actúa estimulando la formación de fibroblastos y colágeno. Parcialmente responsable de la actividad farmacológica. Además preserva y protege la estructura celular precedente, resultando cicatrización completa y fisiológica.

La acción del *Crotón lechleri* se da en tres fases de la cicatrización:

- En la primera fase, se da la rápida formación de una costra espesa y resistente (gracias a los polifenoles).
- En la segunda fase, se da la estimulación de la migración de los fibroblastos y producción de tejido cicatrizante (gracias a la taspina).
- La tercera fase, se preserva y protege la estructura celular precedente resultando cicatrización completa y fisiológica (gracias a los lignanos). La rápida y beneficiosa acción del *Crotón lechleri* en las picaduras de insecto en los niños ha sido objeto de una especial presentación en el último.

A la luz de los datos más recientes parece que la acción de los alcaloides consiste sobre todo en la estimulación a los fibroblastos y puede influenciar la capacidad de producir nuevo tejido cicatrizante.

G.8. Componentes Químicos ^{[10] [18] [26]}:

Alcaloides:

El látex de *Crotón lechleri* contiene taspina que fue el primer compuesto que se relacionó con la actividad farmacológica. El contenido de taspina en el látex varía ampliamente, en un rango del 1,3% al 20,4% respecto a peso seco, con una media de un 9%. A diferencia del látex, las hojas de esta especie contienen otros alcaloides adicionales, a partir de los cuales se han definido tres quimiotipos diferentes como aporfinas, morfinanodienona y protoberberina. ^[22] Del género crotón, se han aislado 30 alcaloides, 22 con estructura conocida, siendo los principales la taspina, sinoacutina, solutaridina, sparciflorina.

En estudios botánicos y farmacológicos de *Crotón lechleri* mostró dos tipos de alcaloides de la corteza. Uno de los alcaloides presento cristales de tipo acidicular y el otro de tipo cúbico. Dentro de los efectos farmacológicos, se observó que las soluciones de los cristales acidulares inyectados en intestino de rata tenía un efecto relajante, mientras que las soluciones de cristales cúbicos producían un efecto estimulante. Análisis químicos y cromatográficos de los alcaloides, permitieron deducir que los cristales en forma de aguja pertenecen al grupo isoquinoléico y los cristales en forma cúbica al grupo fenantrénico. ^[21]

Proantocianidinas:

En el látex de la corteza se identificaron proantocianidinas SP-303, cuyos componentes básicos son las catequinas, entre estas destacan: catequina, epicatequina, galocatequina y epigalocatequina, siendo las predominantes galocatequina y epigalocatequina.

Los componentes mayoritarios (más del 90% del peso seco según algunos autores) aislados de la sangre de drago de *Crotón lechleri* son proantocianidinas.

Lignanos:

Lignanos dehidrobenzofurano como: 3'-4-O-dimetilcedrusina y 4-O-metilcedrusina.

Tanto la taspina como el lignano 3'-4-O-dimetilcedrusina son bioactivos.

Taninos:

En un 54%, Flavonoides, Saponina en baja concentración, Antocianinas, Triterpenos. Además contiene vitamina A, E y C, contiene ácidos orgánicos de carácter débil, almidón, celulosa, grasas, mucilagos, proteínas.

Diterpenos:

Como ácido hardwickiico, bicantriol, crolequinol, korberina A y korberina B. Además están presentes beta-sitosterol, estigmasterol, castaprenol, vomifoliol.

Compuestos reductores (4%) como lactosa, galactosa y rammosa.

Compuestos fenólicos como el ácido gálico.

Farmacobotánica y Farmacognosia ^{[21] [22] [26]}

El árbol de *Croton lechleri* "Sangre de Grado", presenta una corteza grisácea blanquesina que exuda látex de color rojo sangre; con un pH promedio de 4.4. Para la conservación del látex, se recomienda adicionar aguardiente de caña de 50cc/L de látex. La cosecha de látex se realiza en horas de la mañana (5 a 7 am) en cuarto creciente o luna llena hay un mayor rendimiento. El látex no debe almacenarse por más de 2 meses porque afecta su calidad. La taspina y su sal clorhidrato, aislada del látex, han demostrado actividad antiinflamatoria. La resina posee acción antiséptica y evita la putrefacción o inflamación de heridas.

G.9. Usos Medicinales y Populares: ^[22] ^[10] ^[26]

El látex de *Crotón lechleri* “sangre de grado” es el más utilizados a nivel popular en las zonas tropicales húmedas de centro y Sudamérica. Las primeras referencias escritas datan del siglo XVII, cuando el naturista y explorador español P. Bernabé Cobo conoció las propiedades curativas de este látex, ampliamente utilizado por las tribus indígenas de México, Perú y Ecuador. ^[22] Se usa como cicatrizante, antiinflamatorio, antirreumático, gastritis, úlceras gastrointestinales, estimulante de defensas del organismo, bacteriostático, bactericida, fungicida, antiviral, anticancerígeno (hígado, estómago, útero), diarreas, leucorreas, quemaduras, acné, para mejorar la fertilidad, bajar de peso, controlar hemorragias en pos- parto.

Generalmente en medicina popular se utilizan alrededor de 8 gotas (aunque se alcanzan incluso de 20 a 30 gotas), aplicadas directamente sobre una infusión de planta aromática.

En los países de origen resulta habitual encontrar este latex en diferentes presentaciones comerciales, tanto en forma líquida como incorporado a diversos preparados. ^[27]

Además es un producto de exportación para uso en la industria, en la fabricación de pastillas, su tronco es maderable, se usan para trabajos de encofrado, también en la producción de monadientes y de cajones para transportar frutas. La madera también se destina para la obtención de pulpa y como leña. La resina es utilizada como colorante para barnices y marmoles, así como la preparación de lacas para oro.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS:

a. Alcohol Etílico:

También llamado etanol, es un alcohol que se presenta en condiciones normales de presión y temperatura como un líquido incoloro e inflamable.

a. Cicatrización:

Es un proceso biológico mediante el cual los tejidos vivos reparan sus heridas dejando (para el caso de las heridas cutáneas) una cicatriz que puede ser estética o inestética.

b. Control de Calidad:

Son todos los mecanismos, acciones, herramientas realizadas para detectar la presencia de errores.

c. Corteza:

Es la capa más externa de tallos y de raíces de plantas leñosas, como los árboles. Cubre y protege la madera y consiste de tres capas, el felógeno, el floema, y el cambium vascular. Puede alcanzar cerca del 10-15 % del peso total del árbol.

d. Gel:

Es un sistema coloidal donde la fase continua es sólida y la dispersa es líquida. Los geles presentan una densidad similar a los líquidos, sin embargo su estructura se asemeja más a la de un sólido.

e. Herida:

Es una lesión que se produce en el cuerpo. Puede ser producida por múltiples razones, aunque generalmente es debido a golpes o desgarros en la piel. Dependiendo de su gravedad, es necesaria asistencia médica.

g. Látex:

Es una suspensión acuosa coloidal compuesta de grasas, ceras y diversas resinas gomosas obtenida a partir del citoplasma de las células laticíferas presentes en algunas plantas angiospermas y hongos. Es frecuentemente blanco, aunque también puede presentar tonos anaranjados, rojizos o amarillentos dependiendo de la especie, y de apariencia lechosa.

h. Metabolito:

Es cualquier molécula utilizada, capaz o producida durante el metabolismo.

i. pH:

Es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones hidronio $[H_3O]^+$ presentes en determinadas disoluciones.

j. Propilenglicol:

Es un compuesto orgánico (un alcohol, más precisamente un diol) incoloro, insípido e inodoro. Es un líquido aceitoso claro, higroscópico y miscible con agua, acetona, y cloroformo. Se obtiene por hidratación del óxido de propileno.

k. Sepigel:

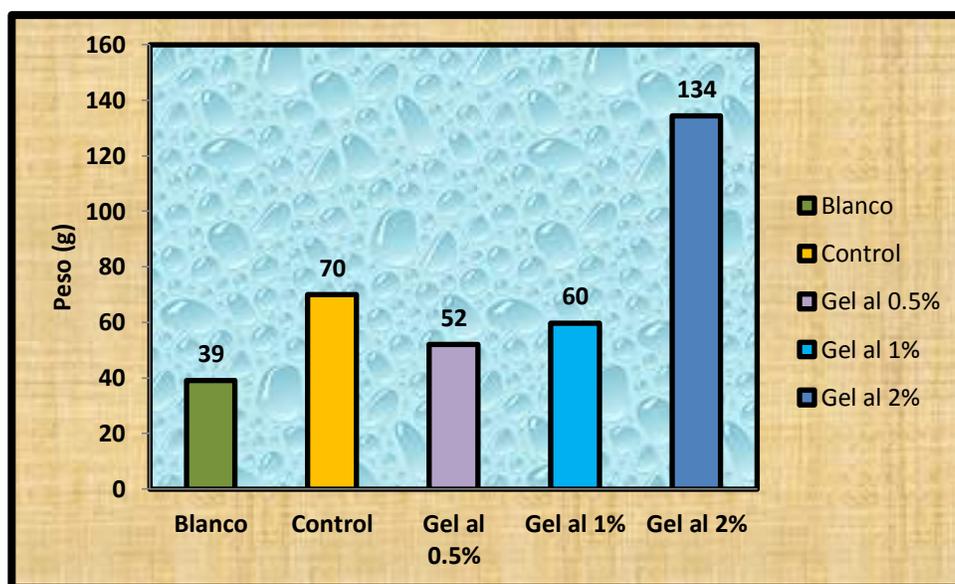
Es un líquido viscoso o ligeramente amarillento, opalescente, con ligero olor característico compuesto de polímero acrílico, isoparafina, y un emulgente. El Sepigel 305 tiene propiedades gelificantes.

CAPITULO III: ANALISIS E INTERPRETACIONES DE RESULTADOS

3.1. ANALISIS DE TABLAS Y GRÁFICOS:

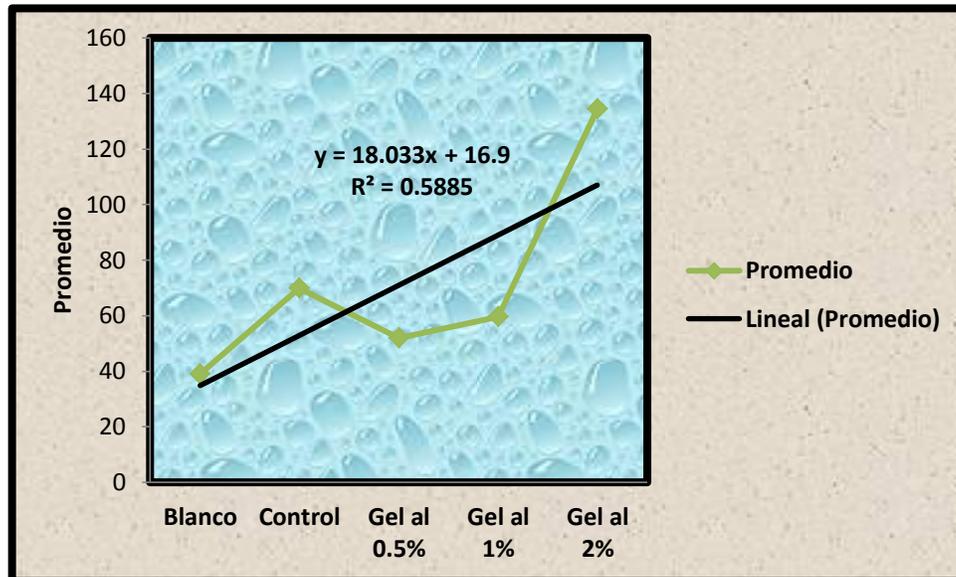
CUADRO Y GRÁFICO N°1: PESO EN GRAMOS EN GRUPOS DE RATONES POR TRATAMIENTO

| Tratamiento | Blanco | Control | Gel al 0.5% | Gel al 1% | Gel al 2% |
|-------------|--------|---------|-------------|-----------|-----------|
| R1 | 47 | 69 | 53 | 54 | 112 |
| R2 | 39 | 71 | 52 | 64 | 150 |
| R3 | 31 | 71 | 52 | 61 | 141 |
| Promedios | 39 | 70 | 52 | 60 | 134 |
| S2 | 64.00 | 1.00 | 1.00 | 26.33 | 394.33 |



En el cuadro y gráfico nos muestra el peso (en g) medido con el dinamómetro en cada ratón y por tratamiento. Observamos que a los ratones que se les aplicó un tratamiento con el gel al 2% a base de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” presenta un mejor rendimiento. Las existencia de diferencias significativas entre ellos se obtiene mediante ANNOVA one way (de un factor) y estudio post hoc (Prueba de Tukey).

GRÁFICO N°2: PROMEDIO DE PESOS EN GRAMOS POR TRATAMIENTO



En este gráfico podemos observar el gráfico de promedios de la fuerza de tensión (en gramos) por tratamiento aplicado. Se corrobora lo mencionado en el gráfico N°1 ya que nuevamente se observa que la aplicación del gel al 2% a base de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” es la de mayor rendimiento.

**CUADRO N°3: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA PARA LOS PROMEDIOS
OBTENIDOS EN CADA TRATAMIENTO APLICADO**

| TTO | N | Media | Desviación típica | Error típico | Intervalo de confianza para la media al 95% | | Mínimo | Máximo |
|--------------|-----------|--------------|-------------------|--------------|---|-----------------|-----------|------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior | | |
| 1 | 3 | 39,00 | 8,000 | 4,619 | 19,13 | 58,87 | 31 | 47 |
| 2 | 3 | 70,00 | 1,000 | ,577 | 67,52 | 72,48 | 69 | 71 |
| 3 | 3 | 52,00 | 1,000 | ,577 | 49,52 | 54,48 | 51 | 53 |
| 4 | 3 | 59,67 | 5,132 | 2,963 | 46,92 | 72,41 | 54 | 64 |
| 5 | 3 | 134,33 | 19,858 | 11,465 | 85,00 | 183,66 | 112 | 150 |
| Total | 15 | 71,00 | 35,406 | 9,142 | 51,39 | 90,61 | 31 | 150 |

Leyenda:

TTO: Tratamientos Aplicados:

1. Blanco
2. Control
3. Gel al 0.5%
4. Gel al 1%
5. Gel al 2%

N: Número de Muestras (Ratones *Rattus rattus var. albinus*)

En este cuadro podemos observar los valores de los límites superior e inferior por cada tratamiento aplicado. Si observamos la media o promedio por cada tratamiento aplicado todos se encuentra dentro de los límites establecidos.

CUADRO N°4: PRUEBA DE ANNOVA ONE WAY O DE UN FACTOR

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|---------------------|-------------------|----|------------------|--------|-------------|
| Inter-grupos | 16537,067 | 4 | 4134,267 | 42,504 | ,000 |
| Intra-grupos | 972,667 | 10 | 97,267 | | |
| Total | 17509,733 | 14 | | | |

Asumiendo:

H_0 : No existe diferencia significativa entre la medias ($P > 0.05$)

H_1 : existen diferencias significativas entre las medias ($P < 0.05$)

En este cuadro podemos observar la prueba estadística ANNOVA one way o de un factor. El P valor (sig.) es menos que 0.05 por ello se debe de aceptar la hipótesis alternativa es decir “Existen diferencias significativas entre las medias”, por ende se requiere del estudio post hoc (Prueba de Tukey) para establecer las comparaciones múltiples entre los tratamientos aplicados.

CUADRO N°5: ESTUDIO POST HOC (PRUEBA DE TUKEY)

| COMPARACIONES MÚLTIPLES | | | | | | |
|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|---------------------|-------------|--------------------------------------|------------------------|
| VARIABLE: PESO | | | | | | |
| HSD DE TUKEY | | | | | | |
| (I) CATEGORIAS | (J) CATEGORIAS | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| 1 | 2 | -31,333* | 8,053 | ,020 | -57,84 | -4,83 |
| | 3 | -13,333 | 8,053 | ,499 | -39,84 | 13,17 |
| | 4 | -20,667 | 8,053 | ,151 | -47,17 | 5,84 |
| | 5 | -95,333* | 8,053 | ,000 | -121,84 | -68,83 |
| 2 | 1 | 31,333* | 8,053 | ,020 | 4,83 | 57,84 |
| | 3 | 18,000 | 8,053 | ,242 | -8,50 | 44,50 |
| | 4 | 10,667 | 8,053 | ,684 | -15,84 | 37,17 |
| | 5 | -64,000* | 8,053 | ,000 | -90,50 | -37,50 |
| 3 | 1 | 13,333 | 8,053 | ,499 | -13,17 | 39,84 |
| | 2 | -18,000 | 8,053 | ,242 | -44,50 | 8,50 |
| | 4 | -7,333 | 8,053 | ,886 | -33,84 | 19,17 |
| | 5 | -82,000* | 8,053 | ,000 | -108,50 | -55,50 |
| 4 | 1 | 20,667 | 8,053 | ,151 | -5,84 | 47,17 |
| | 2 | -10,667 | 8,053 | ,684 | -37,17 | 15,84 |
| | 3 | 7,333 | 8,053 | ,886 | -19,17 | 33,84 |
| | 5 | -74,667* | 8,053 | ,000 | -101,17 | -48,16 |
| 5 | 1 | 95,333* | 8,053 | ,000 | 68,83 | 121,84 |
| | 2 | 64,000* | 8,053 | ,000 | 37,50 | 90,50 |
| | 3 | 82,000* | 8,053 | ,000 | 55,50 | 108,50 |
| | 4 | 74,667* | 8,053 | ,000 | 48,16 | 101,17 |

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

CATEGORIAS:

1 = Blanco

2 = Control

3 = Gel al 0.5%

4 = Gel al 1%

5 = Gel al 2%

En este cuadro se presenta la Prueba Tukey para determinar la diferencia significativa entre las medias de los tratamientos aplicados en el estudio.

Según los resultados obtenidos existen diferencias significativas entre 5-1, 5-2, 5-3 y 5-4 ($P < 0.05$) por ello el grupo que recibió el tratamiento del gel al 2% elaborado a base de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” presenta una buena actividad cicatrizante con respecto a los demás tratamientos.

CUADRO N°6: PRUEBA DE TUKEY DE SUBCONJUNTO DE GRUPOS

| PESO | | | | |
|--|---|------------------------------|-------|--------|
| HSD de Tukey | | | | |
| CATEGORIAS | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 3 | 39,00 | | |
| 3 | 3 | 52,33 | 52,33 | |
| 4 | 3 | 59,67 | 59,67 | |
| 2 | 3 | | 70,33 | |
| 5 | 3 | | | 134,33 |
| Sig. | | ,151 | ,242 | 1,000 |
| Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. | | | | |
| a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000. | | | | |

CATEGORIAS:

- 1 = Blanco
- 2 = Control
- 3 = Gel al 0.5%
- 4 = Gel al 1%
- 5 = Gel al 2%

En este cuadro se presenta la Prueba de Tukey de Subconjunto para determinar la media de mayor significancia en el estudio realizado. Según los resultados obtenidos para las categorías 1, 3 y 4 sus medias son estadísticamente iguales ($P > 0.05$), por lo tanto no existe diferencia significativa entre ellos. Con respecto a las categorías 3, 4 y 2 sus medias también son estadísticamente iguales ($P > 0.05$), por lo tanto tampoco existen diferencias significativas entre ellos. Con respecto a la categoría 5 como esta agrupado sólo en un subgrupo entonces se puede deducir que presenta la media con mayor rendimiento ($P > 0.05$), por lo tanto podemos dilucidar que el gel al 2% elaborado a base de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” es la que mejor actividad cicatrizante presenta a comparación de las otras categorías.

DISCUSION

Basado en estudios anteriores los investigadores han determinado que tanto el látex como la resina de *Crotón lecheri* “Sangre de Grado” presentan actividad cicatrizante, además acelera la curación de las heridas y otros usos. Los investigadores también determinaron que el principal metabolito del *Crotón lecheri* “Sangre de Grado” es la Taspina ya que estimula in vitro la contracción de la herida, ayuda en la formación de la costra y regenera rápidamente la piel ayudando a la formación de colágeno en asociación con el 3'-4-O-dimetilcedrusina y los polifenoles (catequinas y proantocianidinas), y se ha demostrado que el látex total es más activo que sus componentes aislados; experimentos in vivo en ratón demuestran que la taspina posee un efecto cicatrizante dosis dependiente, promueve las fases tempranas de la curación de una herida y su mecanismo de acción podría estar relacionado con la estimulación de la quimiotaxis de fibroblastos.

Los investigadores también encontraron que el lignano 3'-4-O-dimetilcedrusina interviene en la acción de curación de heridas con Sangre de Grado, los polifenoles juegan un papel importante en la acción cicatrizante del látex, probablemente debido a la acción secuestradora de radicales libres, las proantocianidinas estimulan la contracción de la herida y la formación de una costra oscura que recubre la herida. De hecho, muestras de látex que no presentaron 3'-4-O-dimetilcedrusina y contienen muy baja proporción de taspina han mostrado actividad cicatrizante, sin embargo, el látex es cuatro veces más efectivo en la curación de heridas que la dimetilcedrusina o la taspina aisladas.

A pesar de los beneficios del látex de la sangre de grado investigadores determinaron que la Taspina ejerce un efecto letal a una concentración de 3000ng/ml, un efecto tóxico entre 500 – 3000 ng/ml y un efecto tóxico débil a 500ng/ml; otros investigadores mencionan que el elemento que le da las propiedades es el lignano de dihidrobenzofurano: 3', 4-O-dimetilcedrusina.

El presente trabajo de investigación sólo analizó la actividad cicatrizante del gel elaborado a base de *Crotón lecheri* “Sangre de Grado”. La medición del peso en el dinamómetro corrobora la actividad cicatrizante de cada gel, observándose una mayor actividad en el gel al 2%, seguido por el control positivo, luego el gel al 1% y finalmente el gel al 0.5%, ya que a mayor peso entonces mayor fuerza de tensión se requiere para reabrir la herida, por ende la actividad cicatrizante es alta. Esta técnica también fue empleada por Calderón y Col. (1995), la cual determinaron que la aplicación tópica de *Crotón lecheri* “Sangre de Grado” favorecía los niveles de resistencia a la tensión.

En el anexo N°10 se muestra las características organolépticas de cada gel en su respectiva concentración. Es importante describir las propiedades sensoriales de un producto ya que nos permite validar a través de los sentidos las particularidades de cada gel elaborado.

En el anexo N° 11 se muestra el pH promedio de cada gel elaborado a base del látex de *Crotón lecheri* “Sangre de Grado”. La determinación del pH es importante ya que toda forma farmacéutica semisólida debe ser compatible con la piel ya que permite la adecuada acción de los metabolitos presentes en el látex de la Sangre de Grado, permite mantener una adecuada estabilidad del gel y mantiene la integridad del factor hidratante natural. El pH promedio para los geles al 0.5% fue de 6.9 y para los geles al 1% y 2% fueron de 6.8, por ello si observamos el pH de la piel (5,5 – 6,5) son similares al de la forma farmacéutica semisólida por lo tanto no requiere ser corregido.

En el gráfico N° 2, podemos observar el gráfico de promedios de la fuerza de tensión (en gramos) por tratamiento aplicado. Se corrobora lo mencionado en el gráfico N°1 ya que nuevamente se observa que la aplicación del gel al 2% a base de látex de *Crotón lecheri* “Sangre de Grado” es la de mayor rendimiento. Nótese que en segundo lugar está el tratamiento control (aplicación de Cicatriquiure) por ello

esta marca comercial tiene mayor rendimiento que los geles al 0.5% y 1% preparados a base de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”; para confirmar ello se aplicó pruebas estadísticas ANNOVA one way y Prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95% y error relativo del 5%.

En el cuadro N° 3 se muestra la estadística descriptiva para los promedios obtenidos en los tratamientos aplicados. Según los resultados obtenidos los promedios están aptos para su aplicación estadística inferencial respectiva ya que se encuentran dentro de sus límites respectivos, por ello ningún dato fue discriminado para realizar la prueba estadística de ANNOVA one way o de un factor y la Prueba de Tukey.

En el cuadro N°4 se muestra la prueba de ANNOVA one way o de un factor; según el resultado obtenido se acepta la hipótesis alternativa (H_1), es decir, existen diferencia significativas entre los tratamientos aplicados, es por ello que se aplicó el estudio post hoc denominado prueba de Tukey.

En el cuadro N°5 se presenta la Prueba Tukey para determinar la diferencia significativa entre las medias de los tratamientos aplicados en el estudio. Según los resultados obtenidos existen diferentes significativas entre 5-1, 5-2, 5-3 y 5-4 ($P < 0.05$) por ello el grupo que recibió el tratamiento del gel al 2% elaborado a base de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” presenta una buena actividad cicatrizante con respecto a los demás tratamientos.

En el cuadro N° 6 se presenta la Prueba de Tukey de Subconjunto para determinar la media de mayor significancia en el estudio realizado. Según los resultados obtenidos para las categorías 1, 3 y 4 sus medias son estadísticamente iguales, por lo tanto no existe diferencia significativa entre ellos. Con respecto a las categorías 3, 4 y 2 sus medias también son estadísticamente iguales, por lo tanto tampoco existen diferencias significativas entre ellos.

Con respecto a la categoría 5 como se encuentra en un subgrupo entonces se deduce que es la de mayor rendimiento, por lo tanto podemos dilucidar que el gel al 2% elaborado a base de látex de *Crotón lechleri* “Sangre de Grado” es la que mejor actividad cicatrizante presenta.

De esta manera en orden de mayor a menor actividad se encuentran el gel al 2%, gel al 1% y por último gel al 0.5% respectivamente determinado aplicando las pruebas estadísticas ANNOVA one way y estudios pos hoc (Prueba de Tukey) al 95% de confianza con un error del 5%.

CONCLUSIONES

El látex de la especie *Crotón lechleri* “Sangre de Grado”, presenta actividad terapéutica como cicatrizante externo en las formas farmacéuticas de gel al 0.5%, 1% y al 2%. El tratamiento con mayor efecto cicatrizante fue el gel al 2%, seguido por el gel al 1% y finalmente el gel al 0.5% de los tratamientos.

Estadísticamente se comprobó aplicando pruebas de estadística descriptiva y estadística inferencial paramétrica ANNOVA y Prueba de Tukey a un intervalo de confianza al 95% denota que el gel al 2% presenta una mayor actividad cicatrizante frente a las concentraciones al 1%, 0.5% y al control positivo gel Cicatriquiure.

RECOMENDACIONES

Continuar con investigaciones farmacológicas de los recursos naturales de nuestro país, con la finalidad de encontrar plantas medicinales con principios activos y comprobar su actividad farmacológica en distintas formas farmacéuticas, que sean eficaces en el tratamiento de diversas enfermedades.

Realizar el estudio de estabilidad de los geles elaborados a base de látex de *Cróton lecheri* “Sangre de Grado”, mediante métodos analíticos para obtener datos del tiempo de vida útil, con el fin de asegurar la estabilidad del producto terminado.

Realizar el control de calidad de los productos terminados tanto los parámetros físico-químicos y microbiológicos.

La Universidad Alas Peruanas se debe implementar mejor en cuanto a reactivos y equipos para poder llevar a cabo de la mejor manera las tesis correspondientes.

BIBLIOGRAFIA

1. Agapito T. Plantas Medicinales. 2nd ed. Lima: Isabel Sung; 2000.
2. Arroyo J. Manual de Modelos Experimentales de Farmacología. 1st ed. Lima: Mc Graw Hill; 2004.
3. Calderón J. Efecto de la Sangre de Grado (Savia del *Crotón Palanostigma*) en la Cicatrización de heridas incisionales en piel de ratones. 1995. Eval. 16 pts.
4. Cardenas D. Aplicación Clínica de la Sangre de Grado en el Tratamiento de la Gingivitis Crónica. Tesis: Universidad de San Martín de Porres, Lima; 1994.
5. Caro V. Reacción del tejido subcutáneo a los cementos de obturación a base de Bálsamo de Perú y Sangre de Grado en ratones suizos. 1985. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
6. Cornejo V. Plantas Medicinales y su Correcta Utilización. 1st ed. Biológicas FdC, editor. Ayacucho: UNSCH; 1986.
7. Chen Z. Studies on the Antitumor, Antibacterial and Wound - Healing properties of Drago's Blood. *Planta Médica*. 1994 Noviembre; 60(6).
8. Cotran R. Patología Estructural y Funcional I. 4th ed. Hill MG, editor. Madrid: Interamericana; 1990.
9. Didier L. Experiencias en Medicina Tradicional y Salud Intercultural en la Amazonía Ecuatoriana. *Anales*. Ecuador; 2002. Report No.: 1101-4148.
10. Domínguez, A. Efecto Cicatrizante de Extracto Fluido de Hojas Siempreviva. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2001. Abril; 2001 (1).
11. Fernández E. Manual de Formulación Magistral Dermatológica. 1st ed. Madrid: E. Alía; 1998.
12. García V. Fundamentos de Patología Quirúrgica. 1st ed. Madrid: Litofinter; 2002.
13. Gennaro A. Remington Farmacia. 20th ed. Buenos Aires: Médica Panamericana S.A.; 2003.
14. Hernández R. Metodología de la Investigación Científica. 4th ed. México D.F.: Mc Graw Hill Interamericana; 2006.
15. Howes E. Sooy J, Harvey S. The healing of wound as determined by their tensible strength. *J.a.m.a*. 1929; 42(5).
16. López L. Elaboración de una Forma Farmacéutica de Aplicación con Efecto Cicatrizante a partir del Extracto Atomizado del Látex de Sangre de Grado. Tesis: Universidad Mayor se San Marcos, Lima; 1999.
17. Málaga T. Efecto del Clorhidrato de Taspina Sobre la Curación de Úlcera Gástrica Inducida en Ratas. 1985.

18. Marcelo A. Propiedades Biológicas de Metabolitos Secundarios de "Sangre de Grado". 1999.
19. Milla M. Estudio sobre el Mecanismo de Acción del Principio Activo de la "Sangre de Grado". Tesis: Universidad Privada Cayetano Heredia, Lima; 1985.
20. Miller M. Journal of Physiol. Gastrointest. [Online].; 2000 [cited 2013 Junio 29. Available from: <http://ajpgi.physiology.org/content/279/1/G192.full>.
21. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. 1st ed. Habana Udl, editor. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos; 1996.
22. Mostacero J. Taxonomía de Fanerógamas Peruanas. 1st ed. CONCYTEC , editor. Lima; 1993.
23. Palacios J. Plantas Medicinales Nativas del Perú. 1st ed. CONCYTEC , editor. Lima: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo; 1997.
24. Pérez E. Estudio Botánico Químico Farmacológico de Cuatro Especies con Actividad Cicatrizante. Proyecto ICBAR.: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima; 1995.
25. Pieters L. Isolation of a Dihydrobenzofuran Lignan from South American Dragon´s Blood (Croton spp.) as an Inhibitor of Cell Proliferation. Journal of Natural Products. 1993 Enero; 56 (6).
26. Risco E. Bases Químicas y Farmacológicas de la Utilización de la Sangre de Drago. Revista de Fitoterapia. 2005 Marzo; 5(2).
27. Ubillas R. An Antiviral Oligomeric Proantocyanidin Form Latex of *Crotón Lechleri* (Sangre de Drago). Phytomedicine. 1994 July; 1(77).
28. Vaisberg A. Taspine is The Cicatrizant in Sangre de Drago Extracted from *Crotón Lechleri*. Planta Medica. 1994 January; 6(60).
29. Vila J. Tecnología Farmacéutica. 1st ed. Madrid: Síntesis S.A.; 2001.
30. Zaravia M. Reacción Antiinflamatoria del Tejido Conjuntivo al Cemento de Obturación de Conductos a Base de Cróton Lechleri ("Sangre de Grado") en ratas de cepa Holtzman. 2001.

ANEXOS

ANEXO N° 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

| TITULO | PROBLEMA | OBJETIVOS | HIPÓTESIS | VARIABLES E INDICADORES | MARCO TEÓRICO | METODOLOGÍA |
|---|--|---|---|---|--|--|
| <p>Actividad cicatrizante del Gel elaborado a base del látex de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado”.</p> | <p>¿Tendrá actividad cicatrizante el gel de látex de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado”?</p> | <p>Objetivo General</p> <p>Determinar la actividad cicatrizante del gel de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado”</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>a) Determinar la actividad cicatrizante del gel de <i>croton lechleri</i> “Sangre de Grado”» al 0.5%.</p> <p>b) Determinar la actividad cicatrizante del gel de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado”» al 1%.</p> <p>c) Determinar la actividad cicatrizante del gel de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado”» al 2%.</p> | <p>Hipótesis Principal o Central</p> <p>El gel de latex de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado” presenta actividad cicatrizante.</p> <p>Hipótesis Específicas</p> <p>a) El gel 0.5% de látex de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado” presenta actividad cicatrizante.</p> <p>b) El gel 1% de látex de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado” presenta actividad cicatrizante.</p> <p>c) El gel 2% de látex de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado” presenta actividad cicatrizante.</p> | <p>Variable:</p> <p>Actividad cicatrizante</p> <p>Indicadores</p> <p>Peso</p> | <p><i>Croton lechleri</i></p> <p>Cicatrización</p> <p>Gel cicatrizante</p> <p>Plantas Medicinales Peruanas</p> | <p>Población:</p> <p>Planta de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado”, del Distrito de Iquitos, Dpto de Loreto, ubicada entre los 106 a 220 msnm.</p> <p>Muestra: 10 ml de látex de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de Grado” de la corteza de la planta de 9 años con 1 mes de edad</p> <p>Método: Test de cicatrización (15 ratones albinos)</p> <p>Análisis Estadístico</p> <p>Los resultados se reportan en cuadros y gráficos, análisis de varianza ANNOVA one way, a través de la prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95%.</p> |

ANEXO Nº 2: FICHA TECNICA DE SEPIGEL

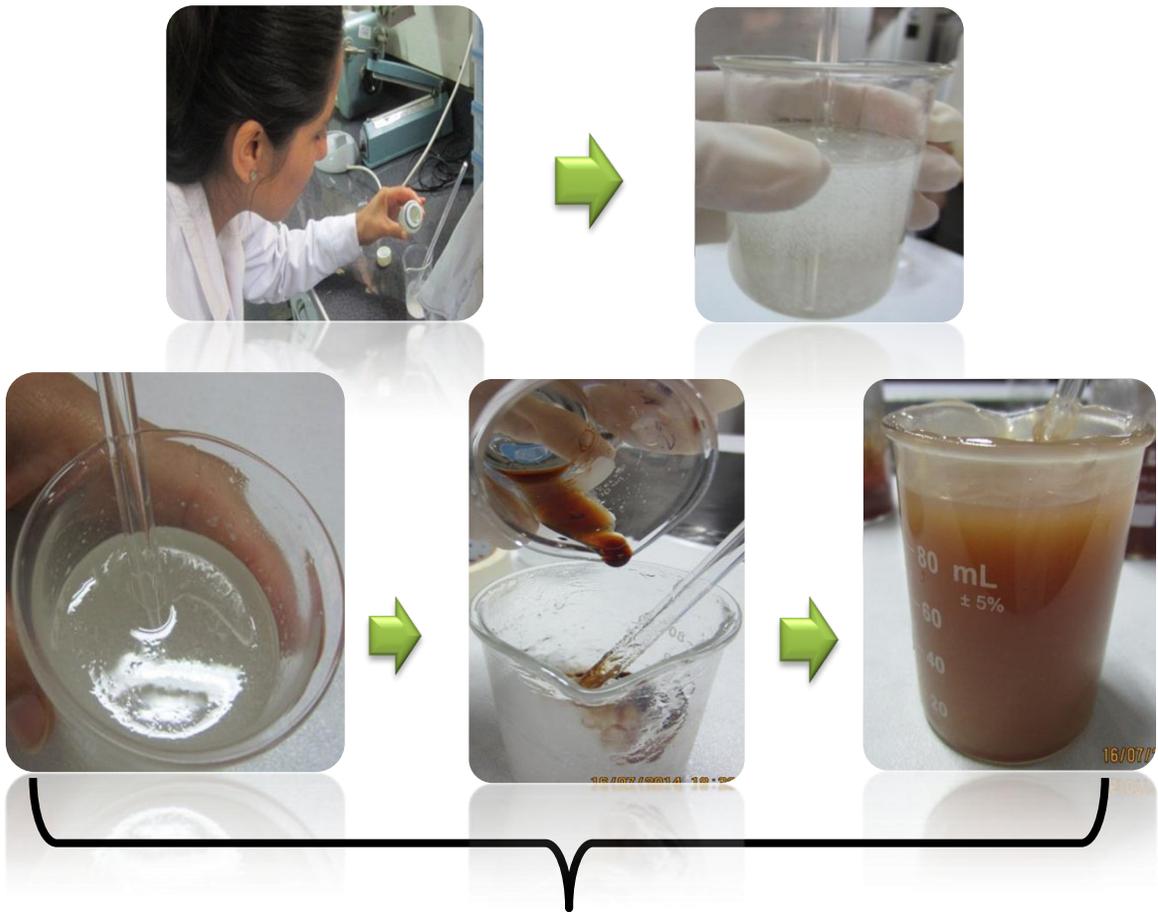


FICHAS DE INFORMACIÓN TÉCNICA

SEPIGEL 305

| | |
|---------------------------------|--|
| Fórmula marco: | Polyacrylamide 35 – 45 % C13-14 Isoparaffin 15 – 25 % Laureth-7 3 – 8 % |
| Datos Físico-Químicos: | Líquido viscoso o ligeramente amarillento, opalescente, con ligero olor característico. Densidad: aprox. 1,08 g/ml. Índice de refracción: aprox. 1,4450. |
| Propiedades y usos: | <p>Es una mezcla de polímero acrílico, isoparafina, y un emulgente. El Sepigel 305 tiene propiedades gelificantes. La isoparafina hace que los geles obtenidos no sean transparentes, pero permite cierta afinidad con componentes grasos. El emulgente permite obtener geles con una concentración baja de producto y sin necesidad de dispersión ni neutralización. Simplemente hay que añadir el producto sobre la solución a gelificar con agitación suave. La gelificación es instantánea. Los geles tienen buena consistencia y no hay adhesividad. El rango de pH de máxima estabilidad del gel es de 4 – 9 (pudiendo aguantar hasta 2 – 12). Los geles admiten la incorporación de hasta un 45 % de alcohol y/o propilenglicol. El Sepigel 305 también tiene propiedades espesantes y estabilizantes de emulsiones. Se incorpora con agitación ligera bien templadas o ya frías.</p> |
| Dosificación: | Via tópica: -Al 2 – 3 % como gelificante. -Al 0,3 – 3 % para aumentar la viscosidad de las emulsiones. -Al 3 – 10 % en cremigeles. |
| Conservación: | En envases bien cerrados. PROTEGER DE LA LUZ. |
| Ejemplos de formulación: | Cremigel con Sepigel Sepigel 305 3 % Aceite almendras dulces 10 % Agua purificada c.s.p. 100 g Gel de ácido fosfórico Ácido fosfórico 35 % Sepigel 305 10 % Sol. azul metileno unas gotas Agua purificada c.s.p. 30 g |
| Bibliografía: | - <i>Formulación magistral de medicamentos</i> , COF de Vizkaia, 5ª ed. (2004). |

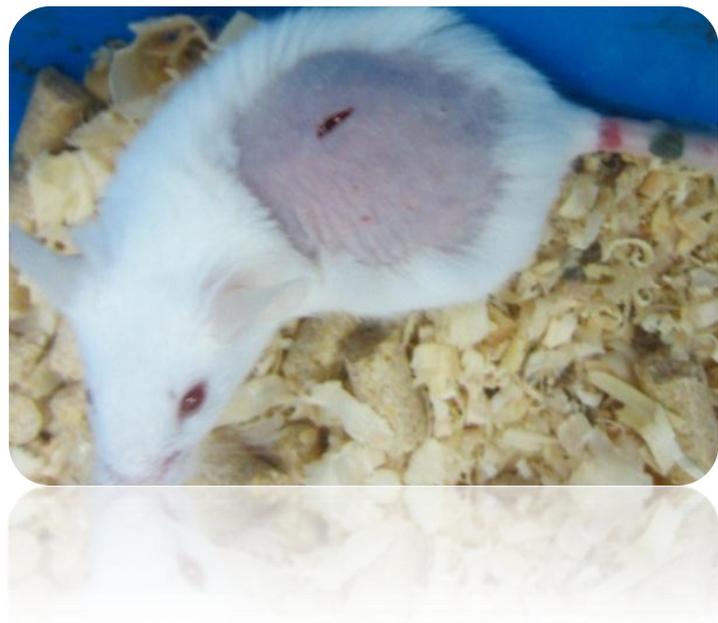
ANEXO N° 3: ELABORACIÓN DE LOS GELES 0.5%, 1% Y 2% A BASE DEL LÁTEX DE *CROTON LECHLERI* “SANGRE DE GRADO” – LABORATORIO DE FARMACOTECNIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNMSM - JULIO 2014



**ANEXO N° 4: SELECCIÓN DE GRUPOS DISTRIBUIDOS AL AZAR.
DEPILACIÓN DEL LOMO DE LOS RATONES. LABORATORIO DE
FARMACOTECNIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA
UNMSM. JULIO 2014**



ANEXO N° 5: INDUCCION DE LA HERIDA A LOS RATONES. BIOTERIO DE LA UNMSM. JULIO 2014



**ANEXO N°6: TRATAMIENTO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD
CICATRIZANTE DEL GEL ELABORADO A BASE DECROTON
LECHLERI “SANGRE DE GRADO”. BIOTERIO DE LA UNMSM**



INGREDIENTES: Agua, Glicerina, Extracto de *Chamomilla recutita*, Extracto de *Allium cepa*, Carbómero, Propilenglicol, Extracto de *Thymus vulgaris*, Extracto de *Ostrea shell*, Trietanolamina, PEG-150 diestearato, Polisorbato 20, Extracto de *Juglans regia*, Extracto de *Aloe barbadensis*, Diazolidinil urea, Benzoato de sodio, EDTA disódico, Propilparabeno, Metilparabeno, Alantoína, Aceite de *Citrus aurantium bergamia*, Extracto de *Centella asiatica*.
*Regenerare ® complex

INGREDIENTES (INCI): Aqua, Glycerin, Chamomilla recutita flower extract, Allium cepa bulb extract*, Carbomer, Propylene glycol, Thymus vulgaris extract, Ostrea shell extract*, Triethanolamine, PEG-150 distearate, Polysorbate 20, Juglans regia leaf extract, Aloe barbadensis extract, Diazolidinyl urea, Sodium benzoate, Disodium EDTA, Propylparaben, Methylparaben, Allantoin, Citrus aurantium bergamia fruit oil, Centella asiatica extract*.
*Regenerare ® complex

ANEXO N° 7: ADMINISTRACION DE LOS TRATAMIENTOS A CADA GRUPO DE RATONES CON LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE GEL



ANEXO N° 8: EUTANASIA DE LOS RATONES PARA LA MEDICIÓN DE LA FUERZA DE TENSION DE LA PIEL EN EL BIOTERIO DE LA UNMSM – JULIO 2014



**ANEXO N° 9: PESO EN GRAMOS DE LOS RATONES ALBINOS PARA MEDIR
LA FUERZA DE TENSIÓN. BIOTERIO DE LA UNMSM. JULIO 2014**

| RATONES | BLANCO | CONTROL | GEL AL 0.5% | GEL AL 1% | GEL AL 2% |
|----------------|---------------|----------------|--------------------|------------------|------------------|
| 1 | 23 | 23 | 23 | 23 | 23 |
| 2 | 24 | 24 | 24 | 24 | 24 |
| 3 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |

**ANEXO N° 10: DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS GELES CICATRIZANTES ELABORADOS A BASE DE
CROTON LECHLERI “SANGRE DE GRADO” – LABORATORIO DE FARMACOTECNIA DE LA FACULTAD DE
 FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNMSM - JULIO 2014**

| FORMA FARMACÉUTICA | CONCENTRACIÓN | CONTROL DE CALIDAD | | | | | |
|--------------------|---------------|--------------------|---------------|--------|---------------------|---------------------|------|
| | | Aspecto | Color | Olor | Presencia de grumos | Untuosidad al tacto | Peso |
| Gel | 0.5% | Homogéneo | Rojo Claro | Herbal | Negativo | Viscoso Penetrante | 100g |
| Gel | 1% | Homogéneo | Marrón Claro | Herbal | Negativo | Viscoso Penetrante | 100g |
| Gel | 2% | Homogéneo | Marrón Oscuro | Herbal | Negativo | Viscoso Penetrante | 100g |

**ANEXO N° 11: DETERMINACIÓN DEL pH DE LOS GELES CICATRIZANTES
ELABORADOS A BASE DE *CROTON LECHLERI* “SANGRE DE GRADO” –
LABORATORIO DE FARMACOTECNIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA DE LA UNMSM - JULIO 2014**

| FORMA FARMACÉUTICA | CONCENTRACIÓN | PH |
|--------------------|---------------|-----|
| Gel | 0.5% | 6.9 |
| Gel | 1% | 6.8 |
| Gel | 2% | 6.8 |

**ANEXO N° 12: PROCESO DE CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS DURANTE
LOS DIAS DE TRATAMIENTO DE LOS RATONES CON LOS GELES CON
ACCION CICATRIZANTE ELABORADOS A BASE DE *CROTÓN LECHLERI*
“SANGRE DE GRADO” – LABORATORIO DE FARMACOTECNIA DE LA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNMSM - JULIO 2014**

| Medidas de la herida en Cm | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|-------------|-----|-----|-------------|------|------|------------------|------|------|------------------|------|------|------------------|------|-----|
| Tratamientos | | | | | | | | | | | | | | | |
| Dia | Control (-) | | | Control (+) | | | Formulacion 0.5% | | | Formulacion 1.0% | | | Formulacion 2.0% | | |
| | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 |
| 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 2 | 2 | 2 | 1.9 | 1.9 | 1.9 | 1.9 | 1.9 | 1.9 | 1.9 | 1.8 | 1.8 | 1.81 | 1.62 | 1.61 | 1.6 |
| 3 | 1.9 | 1.9 | 1.8 | 1.6 | 1.65 | 1.62 | 1.9 | 1.9 | 1.92 | 1.51 | 1.52 | 1.50 | 1.1 | 1.25 | 1.2 |
| 4 | 1.8 | 1.8 | 1.8 | 0.9 | 0.93 | 0.95 | 1.52 | 1.5 | 1.5 | 0.8 | 0.8 | 0.81 | 0.4 | 0.43 | 0.4 |
| 5 | 1.7 | 1.7 | 1.7 | 0.2 | 0.28 | 0.21 | 0.9 | 0.98 | 0.9 | 0.2 | 0.21 | 0.2 | 0.1 | 0.03 | 0.0 |
| 6 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.4 | 0.45 | 0.4 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 7 | 1.3 | 1.3 | 1.3 | | | | 0.0 | 0.01 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |