

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**Evaluación de la actividad cicatrizante de la crema
elaborada a base del extracto atomizado del látex
de *Croton lechleri* "sangre de grado" Ayacucho,
2016**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR EL:
Bach. ARELLANO RIVERA, Hugo

AYACUCHO-PERÚ

2017

DEDICATORIA

*A mis padres por ser los pilares
fundamentales en todo lo que soy en la vida.*

*A mis hermanos y familiares por enseñarme
a cultivar la lealtad y solidaridad.*

A mi esposa por darme la felicidad.

*A mis hijos Matías y Cielo, quienes son mi
fortaleza del día a día.*

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; y en especial al “Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos”, a los docentes por sus enseñanzas y orientaciones durante mi formación profesional.

A mis asesores Mg. Q.F. Marco Rolando ARONÉS JARA y Q.F. Juan PANIAGUA SEGOVIA; y a todas las personas que brindaron su apoyo en la conducción de la presente investigación, cuyos esfuerzos se materializan en este trabajo de tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Croton lechleri “sangre de grado”	5
2.3. Proceso de atomización	7
2.4. Fisiología de la Piel	8
2.5. Heridas	8
2.6. Cicatrización	8
2.7. Forma Farmacéutica Semisólida “crema”	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1. lugar de ejecución	11
3.2. Población, muestra y material biológico	11
3.3. Unidad de análisis	11
3.4. Procedimiento para la recolección de datos	12
3.5. Diseño experimental	19
3.6. Análisis estadístico	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	35
VI. CONCLUSIONES	41
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
IX. ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Descripción y características organolépticas del látex y extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.	23
Tabla 2. Características fisicoquímicas del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.	24
Tabla 3. Identificación de Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.	25
Tabla 4. Características organolépticas de la crema elaborada con extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.	26
Tabla 5. Tipo de emulsión de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.	27
Tabla 6. Valores de irritabilidad según la escala de Draize, de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.	29
Tabla 7. Niveles medios y dispersión de la fuerza de tensión ejercida en los ensayos de determinación de la actividad cicatrizante de las cremas del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.	32
Tabla 8. Prueba de Tukey del volumen de agua que rompe la tensión de la herida tratadas con las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Índice de Extensibilidad de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado”. Ayacucho, 2010.	28
Figura 2. Gráfico de medias. Volumen de agua que rompe la tensión ejercida en (ml) versus los tratamientos de la crema elaborada a base del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado”. Ayacucho, 2010.	30
Figura 3. Porcentaje de actividad cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado” y crema de marca comercial “Cicatrin®” en relación a la crema control. Ayacucho, 2010.	31

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página	
Anexo 1.	Fotografías de hojas y flores de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado” 2010	51
Anexo 2.	Fotografías de plantones y hojas de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado” 2010	52
Anexo 3.	Reconocimiento y extracción del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado” 2010	53
Anexo 4.	Certificado de identificación de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado”. Ayacucho, 2010	54
Anexo 5.	Fases del proceso de cicatrización. ⁴²	55
Anexo 6.	Proceso de atomización del látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. “sangre de grado” Ayacucho, 2010	56
Anexo 7.	Látex atomizado de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado” Ayacucho, 2010	57
Anexo 8.	Proceso de elaboración de cremas a base del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado” a diferentes concentraciones. Ayacucho, 2010	58
Anexo 9.	Elaboración de las cremas a base del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. “sangre de grado” a diferentes concentraciones. Ayacucho, 2010	59
Anexo 10.	Proceso de la Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado”	60
Anexo 11.	Comparación de la actividad cicatrizante de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado”, crema de marca “Cicatrín”; en relación al grupo control. Ayacucho, 2010	61
Anexo 12.	Comparación de la actividad cicatrizante de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado”, crema de marca “Cicatrín” y crema control; en relación al grupo blanco. Ayacucho, 2010	62
Anexo 13.	Fuerza de tensión ejercida por el grupo blanco, crema base, crema “Cicatrín®” y cremas de diferentes concentraciones elaboradas a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. “sangre de grado”. Ayacucho, 2010	63

Anexo 14.	Análisis de varianza para contrastar los Niveles medios y dispersión de la fuerza de tensión ejercida en los ensayos de determinación de la actividad cicatrizante de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri Müll. Arg.</i> “sangre de grado”. Ayacucho, 2010	64
Anexo 15.	Prueba de Duncan del volumen de agua que rompe la tensión de la herida, tratadas con las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri Müll. Arg.</i> “sangre de grado”. Ayacucho, 2010	65
Anexo 16.	Certificado Sanitario emitido por el Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud, 2010	66
Anexo 17.	Equipo de Tensiómetro.	67
Anexo 18.	Procedimiento del Test de cicatrización, determinación del efecto cicatrizante. Ayacucho, 2010	68
Anexo 19.	Escala descrita por Draize para evaluación de lesiones en la piel.	69
Anexo 20.	Matriz de consistencia.	70

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se ejecutó en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, con el objetivo de Evaluar la actividad cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Muell. Arg. “sangre de grado”, mediante el método tensiométrico. Se utilizaron ratones albinos machos de la cepa Balb de 25 a 30 g.

La muestra fue recolectada a 945 m.s.n.m. en el Anexo de Alto Kimiriki, distrito de Pichanaqui, provincia de Chanchamayo, Región Junín, en un frasco esteril oscuro de 500ml.

El extracto atomizado tiene olor característico, sabor amargo, color rojo ladrillo y aspecto a polvo fino homogéneo. Es soluble en metanol y cloroformo; poco soluble en agua; tiene pH ácido, humedad de 8,70% y 3,43% de cenizas totales, presencia de alcaloides, taninos, flavonoides, azúcares reductores y saponinas. Las cremas se clasifican como no irritantes.

Los datos se analizaron mediante el análisis de varianza y la prueba de Tukey se obtuvo mayor efecto cicatrizante con la crema al 1.5% que presenta un valor de significancia de ($p=3,276E^{-17}$) es decir existen diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%.

La actividad cicatrizante se determinó empleando el Test de Howes y como tratamiento, cremas de 0,5%; 0,75%; 1,0%; 1,25% y 1,5% de extracto atomizado; comparando los resultados con el grupo control (crema base), el grupo blanco y el grupo tratado con un medicamento comercial Cicatrín.

Palabras clave: Extracto atomizado, *Croton lechleri*, efecto cicatrizante.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales constituyen un remedio curativo empleado desde la antigüedad por el hombre. Esta práctica es de gran importancia ya que amplía el arsenal terapéutico y carece de efectos secundarios significativos;¹ que están siendo estudiadas científicamente por investigadores, de forma multidisciplinaria, con la intervención de biólogos, químicos, farmacólogos, farmacognocistas.²

Cada año 100 millones de pacientes adquieren cicatrices,³ ya sea por quemadura, intervenciones quirúrgicas o ruptura de tejidos por accidentes de diferente índole, que requieren de un tratamiento efectivo y rápido lo que hace a la cicatrización de heridas un desafío terapéutico.⁴

La piel tiene muchas funciones esenciales, entre ellas: protección, termorregulación, capacidad de respuesta inmunitaria, síntesis bioquímica, detección sensitiva, así como comunicación social y sexual. El tratamiento para corregir disfunción de cualquiera de esas actividades puede suministrarse por vía local, sistémica, intralesional o con radiación ultravioleta.⁵

Por otro lado, para el tratamiento de esta patología existe un mercado de productos farmacéuticos cicatrizantes que en su formulación se integran, principalmente, por compuestos antimicrobianos y antiinflamatorios. El mundo dispone de una variedad de productos naturales que se presentan como fuente de moléculas con un potencial en el tratamiento de múltiples patologías,⁶ el Perú es uno de los países con mayor diversidad de especies vegetales que además son utilizadas, en gran parte, en la medicina tradicional.

El vehículo elegido para un medicamento por vía tópica influirá mucho sobre la absorción del fármaco y los vehículos en si pueden tener efectos beneficiosos sobre la piel si se eligen de manera apropiada.⁵

La savia (látex) extraído de la corteza del *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” perteneciente a la familia Euphorbiaceae es utilizado en la medicina tradicional para el tratamiento de diarreas crónicas, leucorrea,⁷ gastritis, úlceras gastrointestinales,^{8,9,10} como cicatrizante, estimulante de defensas del organismo, bacteriostático, bactericida, fungicida, antiviral, antioxidante, antirreumático, anticancerígeno (hígado, estómago, útero), anti inflamatorio, antiofídico,^{9,10,11} además es usado en el tratamiento de influenza, tonsilitis, herpes, uta, anemias, tuberculosis, quemaduras, acné, resfriados, afecciones de amígdalas, gingivitis, cervicitis; para mejorar la fertilidad, bajar de peso, controlar hemorragias.^{11, 12}

Además, permite dar uso racional a las plantas, optimizando tratamientos y favoreciendo a poblaciones con pocos recursos económicos que confían en los productos derivados de la medicina tradicional.^{13,14.}

En esta investigación se trata de contribuir con los estudios de investigación, usando como base el látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado”, recurso vegetal utilizado en la medicina tradicional de nuestro país, buscando demostrar la actividad cicatrizante del látex atomizado. Es así que se decidió llevar a cabo su estudio en los Laboratorios de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga cuyos resultados quedan plasmados en este informe.

Como resultado de un estudio a nivel experimental para lo cual se plantearon los siguientes objetivos.

Objetivo General

Evaluación de la actividad cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado”

Objetivos Específicos

1. Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado”.
2. Evaluar los parámetros fisicoquímicos de la crema elaborada a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado”.
3. Evaluar el efecto cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” a diferentes concentraciones y comparar con el estándar Cicatrín.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Desde tiempos muy antiguos se conoce del uso como medicina tradicional del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado” para el alivio y tratamiento de múltiples dolencias y enfermedades.

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. No existe un inventario de recursos disponibles con este fin, no se dispone con una Farmacopea Nacional de Plantas Medicinales.¹⁵

En el Perú desde los primeros momentos del descubrimiento y su conquista se observó que entre los súbditos del vasto imperio, se hallaba muy desarrollado la profesión de curanderos y herbolarios y que estas poseían conocimientos muy singulares sobre las propiedades medicinales y tóxicas de determinadas especies vegetales.¹⁶

A continuación se reportan estudios e investigaciones realizadas con el *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”, siendo las siguientes:

- Ayala S y col., en un estudio experimental evaluaron la toxicidad vaginal de una preparación de gel de *Croton lechleri* en conejas; donde, el examen macroscópico de la vagina en el grupo control mostró aspecto congestivo leve en forma difusa, en todos los casos y de aspecto similar en las muestras del grupo *Croton lechleri* al 1%. En la formulación al 5%, en dos casos se observó congestión petequiral parcial leve. El estudio histopatológico reveló un puntaje promedio de irritación vaginal de 3,4 a 6 y 3,6 a 8 para las preparaciones y 5%, respectivamente, cuya conclusión fue que en las condiciones experimentales, las preparaciones del gel de *Croton lechleri* evaluadas fueron no irritantes para la mucosa vaginal y resultaron aceptables.¹⁷

- Arbildo L y col., determinaron el rendimiento de la Taspina aislada de 2 muestras de *Croton lechlerii* (sangre de grado) de las cuencas del Bajo Nanay y Alto Napo respectivamente. En consecuencia la variabilidad del contenido de taspina obtenidos de acuerdo con los estudios que realizamos nos demostraron por resultado que el látex de Sangre de grado procedente de la Cuenca del río Nanay (bajo) tiene mayor rendimiento de taspina 7,2%, en relación con el látex de Sangre de grado procedente de la cuenca del río Napo (Alto) cuyo rendimiento es de 6,45%, lo que lleva a la conclusión que puede deberse a las variaciones interespecíficas y evolutivas de la planta y el medio geográfico que permite que la magnoflorina precursor químico de la taspina se transforma con mayor facilidad en Taspina en la Cuenca del Nanay (Bajo) que en la Cuenca del Napo (Alto).¹⁸
- En la investigación realizada por Allaica N, titulado “Comparación del efecto cicatrizante de tinturas elaboradas a base de guarango (*Caesalpinia spinosa*) y sangre de drago (*Croton lechleri*) aplicados en ratones (*Mus musculus*); concluyéndose, que es más eficaz el tratamiento de SD1.G1; que cicatrizó en 10 días, seguido por la tintura de G que duró 11 días, SD2.G2 13 días, SD14 días, C15 días, E.18 días y finalmente el control negativo 22 días, mientras que en el análisis histopatológico el tejido cicatricial de todos los controles positivos y tratamientos se regeneraron al 100% y el del control negativo al 60%. Se recomienda realizar un producto comercial utilizando estas tinturas para uso veterinario.¹⁹
- Barboza L, determinó el Efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* “Sangre de Drago” teniendo como conclusión que el gel elaborado del látex de *Croton lechleri* “Sangre de Drago” presenta efecto cicatrizante, en orden de mayor a menor efecto se encuentran el gel al 2%, gel al 1% y por último gel al 0,5% respectivamente, aplicando las pruebas estadísticas ANNOVA One Way y estudios pos hoc (Prueba de Tukey) al 95% de confianza con un error del 5% y comparados con un control negativo y positivo Cicatricure®.²⁰

2.2. *Croton lechleri* “sangre de grado”

a) Clasificación científica del *Croton lechleri* “sangre de grado”

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Género	: Croton
Especie	: <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. ²¹
Nombres comunes	: Sangre de grado, Sangre de drago (Ecuador); Palo de drago, Sangre de dragón, Sangregrado, Balsa macho, Palo de grado, Racurana, Palo de dragón, Huampo o Topa roja, dragon's blood (inglés), Racurana, Pocure, Masikamboya (amahuaca), Eshape y Jata akui (ese eja); Ginmunaji (piro, yine); Irare, Jimi mosho y Shawan karo (shipibo - conibo); Kosamáti (matsigenka); Uksavakiro, Widnku (amarakaeri); Yawar wiki (kichwa). ^{7,9,10,22}
Fuente	: <i>Herbarium Huamangensis</i> (Anexo 4)

b) Descripción botánica del *Croton lechleri* “sangre de grado”

La Sangre de Grado (*Croton lechleri* Müll. Arg.), árbol de gran tamaño (entre 10 a 20 metros) que crece a lo largo de los trópicos y las regiones del Amazonas de América del Sur, contiene una resina roja o “sangre”, la cual junto con su corteza tienen una larga historia de uso indígena en América del Sur.²³

Raíz en forma cilíndrica cónica, axomorfa, con la raíz principal más desarrollada que las secundarias, peridermis constituido por súber o corcho.

La corteza externa es de color café-verdosa gris, lisa, posee abundantes lenticelas, en la cual se encuentran vasos laticíferos donde se halla un látex de color rojo vinoso, rojo “sangre” de varias tonalidades, de donde proviene su nombre; la corteza interna es de color crema rosada. El espesor total es de 1 a 1,5 cm.^{11,18}

Hojas simples con dos glándulas en la base, alternas, de lámina acorazonada a veces opuestas de 12-20 cm de largo por 5-14 cm de ancho, las hojas más tiernas de color blanco-rojizo y con abundante indumento, tomentosa en ambos lados, glabrescente y estelado. Inflorescencia terminal en racimos laxos.

Fruto capsular globoso de 3 mm de largo por 4,5 mm de ancho de color café amarillento que contiene tres semillas lisas con carúncula y endospermo oleaginoso.^{7, 8, 24}

c) Distribución geográfica

En el Perú se distribuye en las región de Loreto (en las zonas de Mazán, Llachapa, Salvador, río Napo, río Amazonas, Indiana, Padrecocha, Momón, San Pablo de Cuyana, Pintuyacu, Quebrada Paujil, Quebrada Cetico, Quebrada Salvatierra, río Nanay), Cerro de Pasco (En los valles de Oxapampa, Entaz, Cacazú y Palcazú), Madre de Dios, San Martín, Huánuco, Junín, Cusco, Madre de Dios y Ucayali.^{25, 11}

d) Composición química

Corteza: (látex) se identificó esteroides, cumarinas, alcaloides [tipo isoquinoléico y fenantrénico (taspina)] de acción cicatrizante, biogenéticamente derivado de un precursor conocido como magnoflorina; flavonoides, taninos (54%), saponinas (baja concentración), antocianinas, proantocianidina-1, proantocianidina-4, proantocianidina SP-303; antracenos; compuestos reductores (4%) como lactosa, galactosa y ramnosa, triterpenoides, compuestos fenólicos (ácido gálico); además contiene vitamina A, E y C^{9,11}; contiene ácidos orgánicos de carácter débil,^{11,12} almidón, celulosa, grasas, lignanos (dihidrobenzofurano 3,4-0-dimetilcedrusina y dihidrobenzofurano 4-0-metilcedrusina), mucílagos, proteínas,¹² catequinas (epicatequina, galocatequina, epigallocatequina).

Hojas: alcaloides aporfina (taliporfina y glaucina).¹¹

Los resultados obtenidos al realizar el análisis cualitativo de metabolitos secundarios del látex de *Croton lechleri*, corroboran la presencia predominante de alcaloides, taninos, flavonoides, azúcares reductores y saponinas.²⁶

e) Propiedades Medicinales / Etnofarmacología

La sangre de drago es uno de los productos más utilizados a nivel popular en las zonas tropicales húmedas de Centro y Sudamérica. Las primeras referencias escritas datan del siglo XVII, cuando el naturalista y explorador español Bernabé Cobo conoció las propiedades curativas de este látex, ampliamente utilizado por las tribus indígenas de México, Perú y Ecuador.²⁷

Croton lechlerii (Sangre de grado) resulta ser una de las plantas más reconocidas en la Amazonia peruana por sus propiedades medicinales, ya que posee un principio activo antihemorrágico que detiene rápidamente el sangrado por cortaduras en la piel u otras partes del tejido conjuntivo, y que cuando no es muy pronunciado la herida con su aplicación se evita su suturación y cuando cicatriza no deja huellas visibles o queloideas pues como cicatrizante promueve migración fibroblástica.^{28, 29}

El látex o “sangre de grado” es usada en forma tradicional desde tiempo muy antiguo y en la actualidad se ha demostrado sus propiedades medicinales, como cicatrizante, antiviral, antiinflamatorio,³⁰ anticancerígenas³¹ y probablemente su actividad antitumoral, etc.³² También se utiliza para problemas digestivos, como el tratamiento de úlceras gástricas, para uso renal y hepática y para uso externo en las inflamaciones dérmicas, el látex es activo contra *Escherichia coli*.³⁴ Se usa también en el acné y se dice que eleva las defensas del organismo.³³

2.3. Proceso de atomización

En la industria la obtención de productos en polvo a partir de materiales líquidos se lleva a cabo por medio de un proceso de secado por atomización. El proceso de secado por atomización es capaz de transformar una disolución, una emulsión, una suspensión o una dispersión líquida en un producto totalmente seco y estable. Inicialmente, el líquido se introduce en el equipo por medio de una bomba y se atomiza, a continuación se elimina el disolvente por medio de una corriente de aire caliente; como paso final los equipos utilizados en la industria presentan compartimentos de deposición de estas partículas para que al final sean recogidos en un vaso o recipiente cerrado. Los bajos tiempos de residencia que se emplean y el efecto refrigerador debido a la evaporación, posibilita trabajar eficazmente con productos sensibles a la temperatura. Las ventajas frente a la liofilización son un rendimiento mayor, unos tiempos de procesamientos más cortos y su menor costo. El secado por atomización presenta tanto ventajas como inconvenientes.³⁵

2.4. Fisiología de la Piel

La piel protege al cuerpo frente al medio ambiente y evita las pérdidas excesivas de proteínas, electrolitos, agua y calor. Es uno de los órganos más voluminosos, tiene un área de unos 1,8 m² y constituye el 16% del peso corporal. Está formada por la epidermis, la dermis, y la hipodermis.³⁶

2.4.1. La Epidermis

Es un epitelio pavimentoso y estratificado, en ella se encuentran cuatro tipos de células: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel.³⁷

Capas o Estratos de la Piel:

Estrato Basal.- El estrato basal o germinal conforma la capa celular más profunda de la epidermis. Está compuesto por queratinocitos cilíndricos, el principal papel es el de regenerar la epidermis.

a. Estrato Espinoso.- El estrato espinoso contiene hasta seis capas de células estructuradas de manera irregular, las cuales sintetizan queratina y presentan una actividad mitótica mínima.

b. Estrato Granuloso.- La carnificación paulatina comienza en el estrato granuloso, el estrato granuloso puede abarcar hasta tres capas de células planas, en las cuales se pueden observar densos gránulos de queratohialina.

c. Estrato Lúcido.- Está constituido por dos capas de células sin núcleo ricas en eleidina (sustancia lipídica) y queratinizadas.

d. Estrato Córneo.- Está formado por células queratinizadas y desprovistas de núcleo, que se denominan corneocitos.

2.4.2. La Dermis.- Es un tejido conjuntivo vascularizado y con abundantes terminaciones nerviosas.

2.4.3. La Hipodermis.- La hipodermis representa el estrato más profundo de la capa corporal exterior, está compuesto por tejido conjuntivo laxo.³⁷

2.5. Heridas

Las heridas son traumatismos mecánicos abiertos, es decir; en los que no existe solución de continuidad de la piel.³⁸

2.6. Cicatrización

La cicatrización es un proceso dinámico, interactivo y complejo,³⁹ en el cual participan mediadores solubles extracelulares, células sanguíneas, células de la

matriz tisular, y del parénquima,⁴⁰ para el restablecimiento del tejido lesionado.⁴¹ Existe dos tipos de cicatrización, la de primera intención, que ocurre durante las primeras 12-24 horas después de haber sido cerrada la herida, al aproximar sus bordes con suturas, cintas, o algún dispositivo mecánico. El segundo tipo, de segunda intención, el cual se caracteriza porque no se alcanza a regenerar la arquitectura normal de la piel, debido a la pérdida extensiva de tejido por un trauma severo o una quemadura, y cuyo tiempo de resolución dependerá de la extensión de la herida.^{41, 42}

2.6.1 Fases de la cicatrización de las heridas.^{42, 43}

La cicatrización empieza en el momento en que se pierde la integridad física de la piel. Estos procesos dinámicos no pueden ser separados claramente ya que dichos eventos se agrupan en cuatro fases que se solapan entre ellas y contribuyen la restauración: regeneración celular, proliferación y producción de colágeno. Las fases de la cicatrización son las siguientes:

a) Hemostasia: El primer evento luego de la lesión es la hemostasia, este cierre temporal está dada por la vasoconstricción, seguida por la activación de las plaquetas, la formación de trombos de fibrina y la activación de la cascada de la coagulación. De esta manera se forma de una barrera para impedir la contaminación bacteriana y la pérdida de fluidos.

b) Fase inflamatoria: Una vez lograda la hemostasia, ocurre la vasodilatación, reclutamiento de neutrófilos y de monocitos, aumento de la permeabilidad capilar. Esta fase se caracteriza clínicamente por presentar los signos cardinales de inflamación, tales como eritema, calor, edema y dolor.⁴³

c) Fase proliferativa: Un nuevo tejido va sustituyendo el defecto producido por la agresión, ello involucra la reparación de las capas de la piel, los fibroblastos inician la síntesis de colágena, que es el componente principal del tejido de reparación. La producción del colágeno, requiere el aporte de aminoácidos.

d) Fase de maduración y remodelación: La fase final de la cicatrización es la fase de maduración, se elimina el exceso de colágeno de la parte extracelular y desaparecen las células inflamatorias (Anexo 5).

2.7. Forma farmacéutica semisólida “crema”

Las cremas 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 protectora⁴⁴. Las cremas se pueden formular a partir de una variedad de aceites, minerales y vegetales, y de alcoholes grasos, ácido grasos y ésteres grasos.⁴⁵

2.7.1. Clasificación: ⁴⁶

Hidrófilas (Emulsión aceite en agua (o/w))

En casos de piel normal o presencia de ligera resequedad se recomienda el uso de una emulsión de O/W ya que las gotitas oleosas de la preparación se sitúan dentro de la fase acuosa, se absorben rápidamente en la piel sin dejar un rastro oleoso, la parte acuosa se evapora generando un efecto refrescante, la fase oleosa engrasa la piel y son sólo levemente oclusivas.

Hidrófobas (Emulsión agua en aceite (w/o))

En casos de piel seca o dermatosis crónica se recomienda el uso de emulsiones de este tipo. La fase interna consiste en gotitas de agua rodeadas por la fase oleosa, no se absorben con tanta rapidez en la piel, tienen un efecto oclusivo que reduce la pérdida transepidérmica de agua en la piel

Características de los Excipientes:

- Buena tolerancia (no irritación, o sensibilización)
- Inercia frente al principio activo (compatibilidad física y química), así como frente al material de acondicionamiento.
- Estabilidad frente a factores ambientales para garantizar su conservación.
- Consistencia conveniente para que su extensión sobre la piel sea fácil y puedan dispensarse en tubos.
- Caracteres organolépticos agradables.
- Capacidad para incorporar sustancias solubles en agua y en aceite
- Capacidad para actuar en piel grasa o seca.
- Facilidad para transferir rápidamente a la piel las sustancias activas.
- No deshidratar, ni desengrasar la piel. ⁴⁶

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se ejecutó en el centro de desarrollo, análisis y control de calidad de medicamentos y fitomedicamentos (CEDACMEF) “Javier Gómez Guerreiro”, en los Laboratorios de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de enero a octubre del 2010.

3.2. Población, muestra y material biológico

3.2.1. Población

Está constituida por los arboles de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” de la comunidad de Alto Kimiriki, Distrito de Pichanaqui, Provincia de Chanchamayo, departamento de Junín, situado a 945 m.s.n.m

3.2.2. Muestra

Por muestreo aleatorio simple se obtuvo 500 ml de látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” extraído de 8 árboles maduros en un radio de 2000 m².

3.2.3. Material Biológico

Está constituido por 40 “ratones albinos” machos, de la especie *Mus musculus*, de la cepa Balb/c/CNPB; de 25 a 30 g de 1,5 meses de edad, perteneciente al Lote N°: M-29-2010 (Anexo 16), en buenas condiciones de salud, con alimentación y agua ad libitum, adquiridos en el Instituto Nacional de Salud, Lima.

3.3. Unidad de análisis

Crema de diferentes concentraciones elaborada a base de extracto atomizado de látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado”.

3.4. Procedimiento para la recolección de datos

3.4.1 Recolección del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”

El látex de “sangre de grado” fue recolectado realizando una incisión oblicua en la corteza del árbol de *Croton lechleri*, con un machete de acero inoxidable y se recogió el exudado en un recipiente aséptico, y protegido por la luz, posteriormente se vertió a un frasco de vidrio en una cantidad de 500 ml, en el mes de agosto del 2010, en la comunidad de Alto Kimiriki, Distrito de Pichanaqui, Provincia de Chanchamayo, departamento de Junín, situado a 945 m.s.n.m. Anexo (1, 2 y 3), el cual se puso en un envase de tecnopor, posteriormente refrigerar (2 - 8°C) para mantener en buenas condiciones para su posterior e identificación de sus metabolitos secundarios, atomización, formulación y evaluación. Para la identificación taxonómica se recolectó muestras de hojas y flores correspondientes a la planta.

3.4.2 Identificación Taxonómica

La identificación de realizó en el Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas, con certificación a cargo de la Blga. Laura Aucasime Medina (Anexo 4).

3.4.3 Evaluación de Parámetros Físicoquímicos de látex de *Croton lechleri* “sangre de grado”

Una vez obtenido el látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”, se lleva al Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), para su evaluación de los parámetros físicoquímicos que definen la calidad de los mismos, que a continuación señalamos:

a) Determinación de las características organolépticas:⁴⁷

Color: Se tomó una cantidad suficiente de muestra y se colocó en un tubo de prueba, que es colocada en un fondo blanco, para observar y determinar el tipo de color (utilizando el círculo cromático).

Olor: Se tomó cantidad suficiente de muestra y vertió en un tubo de ensayo, percibir el olor y determinar el tipo de olor. Los términos para describir los olores de la droga son: aromáticos, aliáceo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, a especia, característico, etc.

Sabor: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, para luego hacer contacto con la lengua y se determinó el tipo de sabor.

Aspecto: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se observó y se determinó el aspecto de la muestra.

3.4.4 Atomización del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”

La muestra del látex se atomizó utilizando el A/S NIRO ATOMIZER – COPENHAGEN DENMARK en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo 6).

El látex atomizado se almacenó en un envase de vidrio protegido por la luz y dentro de un desecador para evitar que el producto adquiriera humedad.

3.4.5 Evaluación de Parámetros Físicoquímicos del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”

Una vez obtenido el extracto atomizado se evaluaron los siguientes parámetros físicoquímicos que califican la calidad de nuestro atomizado.

a) Determinación de las características organolépticas

Se determinaron las características organolépticas de las cremas siguiendo los procedimientos descritos anteriormente en el párrafo de evaluación de los parámetros físicoquímicos de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”

b) Tamizaje fitoquímico del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”

Las reacciones de identificación se realizaron siguiendo la metodología propuesta por Miranda M y Cuéllar A. del Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de la Habana - Cuba.⁴⁸

c) Determinación de la solubilidad (Tabla 2):

Para determinar la solubilidad del extracto atomizado se vierte en tubos de ensayo 1 ml de agua destilada, alcohol y cloroformo luego se añadió 0.5 g de muestra, se agitó fuertemente, en caso de no disolverse se aumentó el solvente respectivo a 10 ml, se agitó y observó.^{47, 48}

d) Determinación del pH

Para determinar el pH se utilizó el pH-metro digital, siguiendo el procedimiento descrito en el manual de uso. Las determinaciones que presenten variaciones dentro 0,02 unidades de pH, son aceptadas para promedio con un nivel de confianza de 95%.⁴⁸

e) Determinación del contenido de humedad

Se pesó 2,0 g de muestra con desviación permisible de 0,5 mg y se transfirió a una capsula de porcelana previamente tarada y se deseco a 105°C durante 3 horas hasta masa constante. La cápsula se colocó en la desecadora donde se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó, colocándose nuevamente en la estufa durante una hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.^{48,49}

Cálculo:

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

Donde:

Hg: Pérdida de peso por desecación (%)

M: Masa de la cápsula vacía (g)

M₁: Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M₂: Masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g)

100: Factor matemático

f) Determinación de las cenizas totales

Se pesó no menos de 2,0 g de muestra, con una desviación permisible de 0,6 mg en un crisol de porcelana o platino previamente tarado. Se calentó suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incineró en una mufla a una temperatura de 700 a 750 °C durante 2 horas. Se enfrió el crisol en una desecadora y se pesó, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0,5 mg⁴⁸

Cálculo:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Donde:

C: porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M: Masa del crisol vacío

M₁: Masa del crisol con la porción de ensayos (g)

M₂: Masa del crisol con la ceniza (g)

100: factor matemático

3.4.6 Formulación y Elaboración de la crema a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”

Formulación y Elaboración de Cremas

Cuadro N° 02: Formulaciones de las cremas a ensayar de extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”.

Principio activo y excipientes	Fórmulas					
	Control	0,5 %	0,75 %	1,0 %	1,25 %	1,5 %
Atomizado “sangre de grado”	-	0,5	0,75	1,0	1,25	1,5
Metilparabeno	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
Propilparabeno	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Lauril sulfato de sodio	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Alcohol etílico (96%)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Propilenglicol	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Alcohol cetílico	14,0	14,0	14,0	14,0	14,0	14,0
Vaselina sólida blanca	14,0	14,0	14,0	14,0	14,0	14,0
Agua purificada c.s.p.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

a) Método de elaboración de la crema:

Formación de la fase oleosa: Se colocó en un recipiente de vidrio pyrex provista de baño maría: vaselina blanca y alcohol cetílico, se fundió a 70 °C bajo agitación moderada. Manteniendo la agitación, se añadió propilenglicol, hasta lograr una perfecta incorporación y homogenización manteniendo la temperatura a 70 °C.⁵⁰

Formación de la fase acuosa: En un recipiente adecuado de vidrio pyrex provista de baño maría se cargó agua purificada y se calentó a (70 - 75 °C), luego se agregó metilparabeno y propilparabeno, se agitó hasta disolución completa.

En un recipiente adecuado de vidrio se cargó agua purificada, y se agregó bajo agitación moderada extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll.Arg. “sangre de grado”, hasta disolución completa.

En otro recipiente adecuado de vidrio se cargó agua purificada, a éste se vierte bajo agitación lauril sulfato de sodio, se agitó hasta disolución completa.⁵⁰

Formación de la emulsión final: Una vez que los ingredientes estén totalmente disueltos en sus respectivas fases y manteniendo las correspondientes temperaturas, se incorporó lentamente bajo agitación moderada la fase acuosa sobre la base oleosa, evitando la formación de burbujas, hasta lograr una emulsión completa.

Se apagó las fuentes de calor y se dejó que la temperatura descienda normalmente en una hora mientras se continuó agitando constantemente.

La emulsión formada se caracteriza por ser blanca y fluida, se verificó el pH (entre 5,0 a 7,5).

Se verificó el peso final del lote, se dejó en reposo hasta su enfriamiento en un ambiente aséptico. Una vez verificado sus controles y ensayos, se envasó en un ambiente aséptico en sus envases respectivos previamente sanitizados.^{50,51}

3.4.7 Evaluación de los parámetros fisicoquímicos de la crema.

a) Determinación de las características organolépticas:

Se determinaron las características organolépticas de las cremas siguiendo los procedimientos descritos anteriormente en el párrafo de evaluación de los parámetros fisicoquímicos de látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* "sangre de grado".

b) Determinación de pH: (Tabla 4)

Para determinar el pH se siguió el método de Fiedler, se tomó 5 a 10 g de crema en una vaso de precipitado y luego se llevó a baño maría, se fundió la muestra y se agregó 30 ml de agua destilada a pH 7 calentado a 70°C, se mezcló bien hasta la formación de dos fases; se filtró la fase acuosa y se determinó el pH del filtrado.

c) Determinación del tipo de la emulsión: (Tabla 5)

Método de dilución: En dos tubos de ensayo se colocó 1 a 5 ml de emulsión, a uno de ellos se agregó 5 ml de agua y al otro 5 ml de alcohol, se mezcló y se observó. El tubo que presenta un aspecto homogéneo indica la fase externa de la emulsión, es decir si presentó una dispersión homogénea en agua la fase externa es acuosa (O/W) y si es homogéneo en vaselina o alcohol la fase externa es oleosa (W/O).

Método de los colorantes: En dos láminas portaobjetos, se colocó 1 o 2 gotas de emulsión y a la primera lámina se adicionó azul de metileno (solución acuosa concentrada o cristales concentrados) y a la otra sudan III (solución oleosa o cristales), se mezcló y se llevó al microscopio para su observación. En la primera lámina se observó un campo de color azul y puntos incoloros, en la segunda se observó un campo incoloro y puntos de color rojo. (Azul de metileno = color azul y sudan III = color rojo)

d) Determinación del índice de extensibilidad: (Figura 1)

Para realizar este ensayo se utilizaron dos placas de cristal (10 x 10cm) entre las cuales se colocó 2g de la crema de extracto atomizado de “sangre de grado”, se trabajó a una variación de temperatura de $\pm 0,5$ °C.

Se colocó la placa inferior de cristal sobre una hoja de papel milimetrado. Se recuadró la placa y se trazaron las diagonales, se colocó la muestra del preparado sobre el punto de inserción.

Se pesó la placa superior y se situó sobre la inferior, pasado (1 minuto) y por efecto de la presión, la preparación se ha extendido de forma aproximadamente circular. Se anotó los valores de los dos diámetros y se calculó el diámetro medio y a partir de este se calculó la superficie del círculo formado.

Se repitió esta operación con pesos sucesivos de 50, 100, 200 y 500 g colocados en el centro de la placa.

Se representó la extensibilidad en cm^2 ($\text{Área} = \pi(d/2)^2$) frente a los pesos empleados.

e) Determinación de la irritabilidad dérmica primaria: (Tabla 6)

La irritación producida por una sustancia se midió por una técnica de prueba de parche sobre la piel escoriada e intacta del conejo albino.

El dorso del conejo se rasuró adecuadamente 3,0 x 3,0 cm aproximadamente, se introdujo bajo un parche cuadrado de gasa quirúrgica que midió 2,5 x 2,5 cm y con un grosor de dos monocapas 0,5 g de la forma farmacéutica semisólida (crema) a ensayar. Los animales se inmovilizaron con los parches asegurados en su lugar con tela adhesiva. Todo el tronco del animal se envolvió con un material impermeable, por un periodo de 24 horas.

A las 24 horas de exposición se quitaron los parches, se evaluaron las reacciones resultantes mediante la escala de valores descrita por Draize para la evaluación de las lesiones de la piel.

Se hicieron lecturas nuevamente al final de un total de 72 horas (48 horas después de la primera lectura).

Se sumó los valores del eritema y la formación de escaras, de la piel intacta a la piel escoriada a las 24 y 72 horas cada uno (cinco valores). De manera semejante, se sumó los valores para la formación de edema sumar los valores del eritema y la formación de escaras, de la piel intacta a la piel escoriada a las 24 y 72 horas cada uno (cinco valores). En total los diez valores se dividieron entre cinco para dar un valor de irritación primaria. Se aplicó la escala siguiente para obtener el resultado final.

X = 0: No irritante.

0 < x < 2: Levemente irritante.

2 < x < 6: Moderadamente irritante.

6 < x < 8: Severamente irritante.^{51,52}

3.4.8 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE

a) Método de cicatrización

El método a utilizar es el propuesto por Howes, que se basa en el fundamento del test de cicatrización.

Fundamento: Se fundamenta en la adición de la fuerza de tensión, necesaria para abrir una herida de 1cm de longitud producida en el tercio superior del lomo del ratón.⁵³

b) Procedimiento:

1. Se depiló el lomo de los ratones en un área aproximada de 2cm², 24 horas antes del test, con el fin de evitar alguna reacción alérgica a la crema depiladora.
2. Se pesó y distribuyó aleatoriamente en 8 grupos cada grupo constituido por 5 ratones y se les colocó en jaulas individuales.
3. Se anestesió al animal con pentobarbital sódico "halatal" (1ml / 2,5Kg), por vía intraperitoneal.
4. Luego se desinfectó el área depilada para realizar la incisión de 1 cm. de largo en el tercio del lomo y perpendicular al eje longitudinal del ratón.
5. Se afrontaron los bordes de la herida con un punto de sutura de nudo triple.
6. Se administró en forma tópica la 1^{ra} dosis del tratamiento, esto se repitió cada 12 horas hasta el término del periodo de aplicación.

7. Pasadas las 72 horas se procedió a sacrificar al ratón con una sobredosis de pentobarbital sódico.
8. Posteriormente al sacrificio, se quitó el punto de sutura y se colocó al animal en posición de cubito ventral sobre el aparato de tensión.
9. Se insertaron las agujas del aparato de tensión a 0,5cm de los bordes de la herida, se empleó una bureta (enrasada con agua destilada) para dejar caer el agua al vaso hasta generar una tensión que abra la herida en toda su longitud.
10. Se anotó el volumen alcanzado.
11. Luego se determinó el porcentaje de la actividad cicatrizante.

$$\% \text{ Act.} = \frac{X_{tto} - X_c}{X_c} \times 100$$

Donde:

%Act= Porcentaje de actividad cicatrizante.

X_{tto} = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado.

X_c = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado con crema base.

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.5.1 Tipo de investigación. Pura.

3.5.2 Nivel de investigación. Explicativo.

3.5.3 Diseño de investigación.- Diseño completamente randomizado.

Los ratones se dividieron en 8 grupos, cada grupo constituido por 5 ratones y sus heridas fueron tratados de la siguiente manera:

Grupo 01: Ratones tratados sin crema alguna (blanco)

Grupo 02: Ratones tratados con la crema base (control).

Grupo 03: Ratones tratados con la crema Cicatrín (estándar)

Grupo 04: Ratones tratados con la crema al 0,5%.

Grupo 05: Ratones tratados con la crema al 0,75%.

Grupo 06: Ratones tratados con la crema al 1,0%.

Grupo 07: Ratones tratados con la crema al 1,25%.

Grupo 08: Ratones tratados con la crema al 1,5%.

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se elaboró cuadros para presentar los resultados, los datos obtenidos fueron procesados y analizados mediante el programa Microsoft Excel. Los datos cualitativos como las características organolépticas, se reportarán en Tablas. Se graficaron los resultados de volumen y porcentaje de cicatrización en diagramas de máximos y mínimos para representar la media, se utilizó el análisis de Varianza de una vía con un nivel de confianza de 95% ($\alpha = 0,05$), con un error de 5% y comparación de medias con la prueba de Tukey para determinar los tratamientos diferentes al control y al blanco; para realizar estos análisis se utilizó el programa SPSS versión 17.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Descripción y características organolépticas del látex y extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* "sangre de grado". Ayacucho, 2010.

Muestra de <i>Croton lechleri Müll. Arg.</i>	Peso	Características organolépticas
Látex	498 g	Color rojo vino, Olor característico (madera) Sabor astringente Aspecto viscoso
Extracto atomizado del látex	41 g	color rojo ladrillo, olor característico, sabor astringente, Polvo homogéneo.

Tabla 2. Características fisicoquímicas del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.

Parámetros	Ensayos	Resultados
Organolépticos	Color	Rojo ladrillo
	Olor	Característico
	Sabor	Astringente
	Aspecto	Polvo fino homogéneo
Solubilidad	Agua	Poco soluble
	Metanol	Soluble
	Cloroformo	Soluble
pH	pH – metro	5,63
Humedad	Gravimétrico	8,70%
Cenizas	Gravimétrico	3,43 %

Tabla 3. Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Alcaloides	Dragendorff	+++	Precipitado anaranjado
	Mayer	+++	Precipitado amarillento
	Hager	+++	Coloración marrón
Azúcares reductores	Fehling	++	Precipitado rojo
Saponinas	Espuma	++	Si hay presencia de espuma
Flavonoides	Shinoda	++	Coloración rojo intenso
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración verde
Quinonas	Bontrager	+	Escaza formación de precipitado
Aminoácidos	Ninhidrina	+	Coloración violácea
Cardiotónicos	Baljet	-	No hay reacción alguna

Leyenda:

(-) : Ausente (+) : Moderada (++) : Abundante (+++) : Muy abundante

Tabla 4. Características organolépticas de crema elaborada con extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.

Parámetros	Ensayos	Fórmulas	Resultados
Características Organolépticas	Color	Crema 0,5%	Crema
		Crema 0,75%	Beige claro
		Crema 1,0%	Beige
		Crema 1,25%	Beige oscuro
		Crema 1,5%	Marrón claro
		Crema Base	Blanco nieve
	Olor	Crema	Graso
	Sabor	Crema	Amargo
	Aspecto	Crema	Homogéneo
	pH	Cremas	Crema Base
Crema 0,5%			6,37
Crema 0,75%			6,16
Crema 1,0%			5,99
Crema 1,25%			5,88
Crema 1,5%			5,81

Tabla 5. Tipo de emulsión de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.

Métodos	Solvente	Resultado	Tipo de emulsión
Dilución	Agua destilada	Homogéneo	O/W
		Soluble	
Colorantes	Alcohol etílico	Heterogéneo	O/W
		insoluble	
Colorantes	Solución de azul de metileno	Fase externa color azul	O/W
		Fase interna incolora	
Colorantes	Solución de Sudan III	Fase externa incolora	O/W
		Fase interna color rojo	

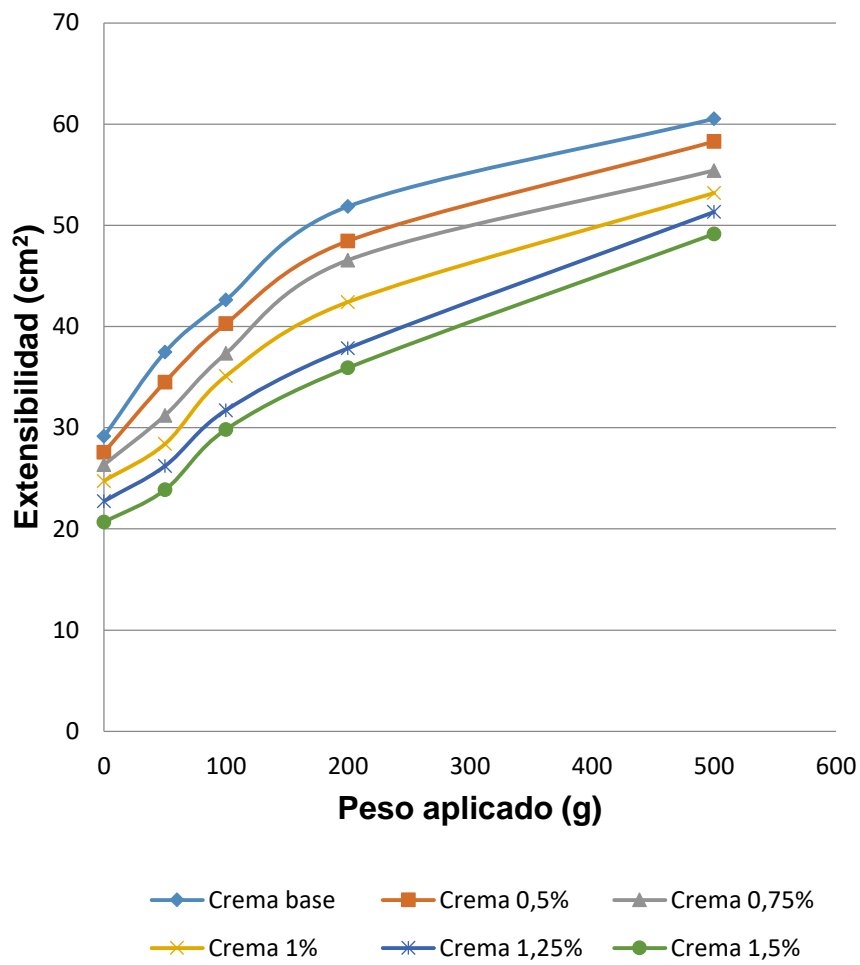


Figura 1. Índice de Extensibilidad de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* "sangre de grado". Ayacucho, 2010.

Tabla 6. Valores de irritabilidad según la escala de Draize, de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado”. Ayacucho, 2010.

Parámetro	Fórmula	Resultados			
		24 horas		72 horas	
		Er.	Ed.	Er.	Ed.
Irritabilidad dérmica primaria	Crema control	0	0	0	0
	Crema 0,5%	0	0	0	0
	Crema 0,75%	0	0	0	0
	Crema 1,0%	0	0	0	0
	Crema 1,25%	0	0	0	0
	Crema 1,5%	0	0	0	0

Leyenda :
 Er. : Eritema
 Ed. : Edema

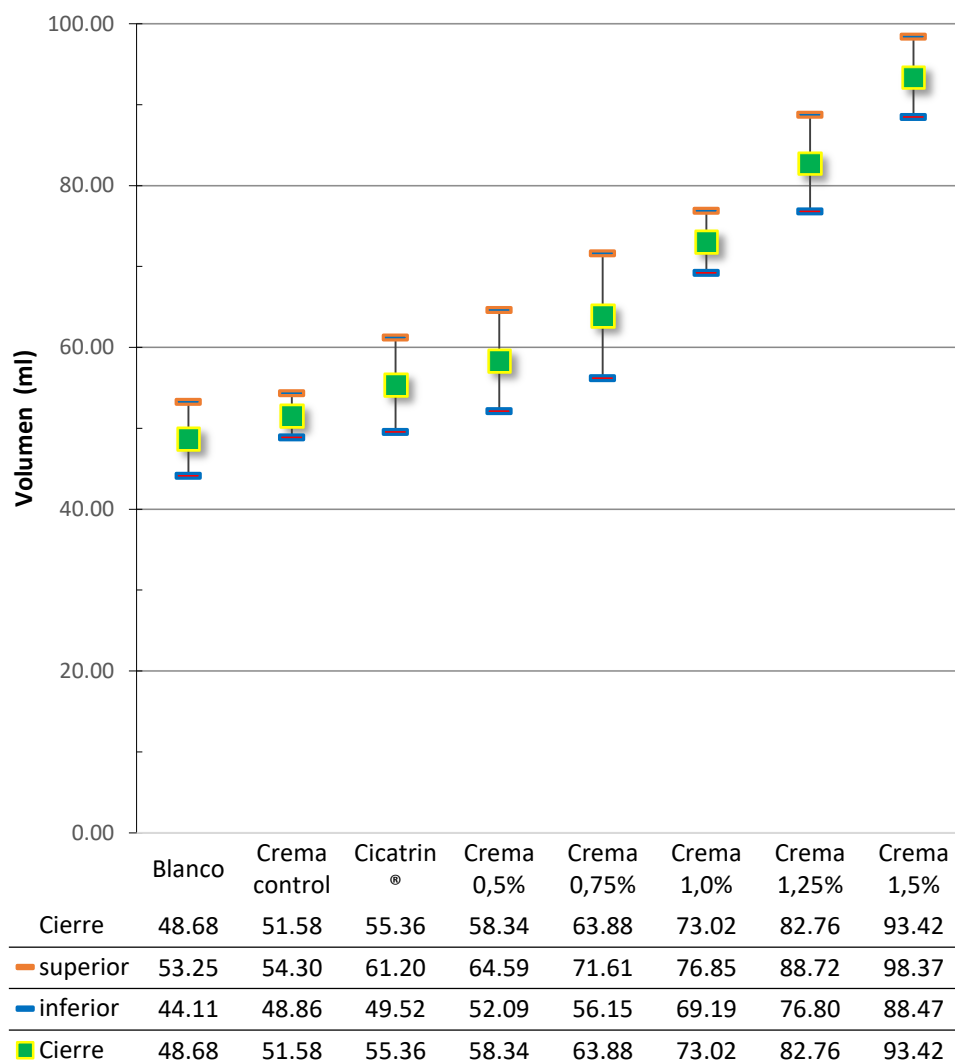


Figura 2. Gráfico de medias. Volumen de agua que rompe la tensión ejercida en (ml) versus los tratamientos de la crema elaborada a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.

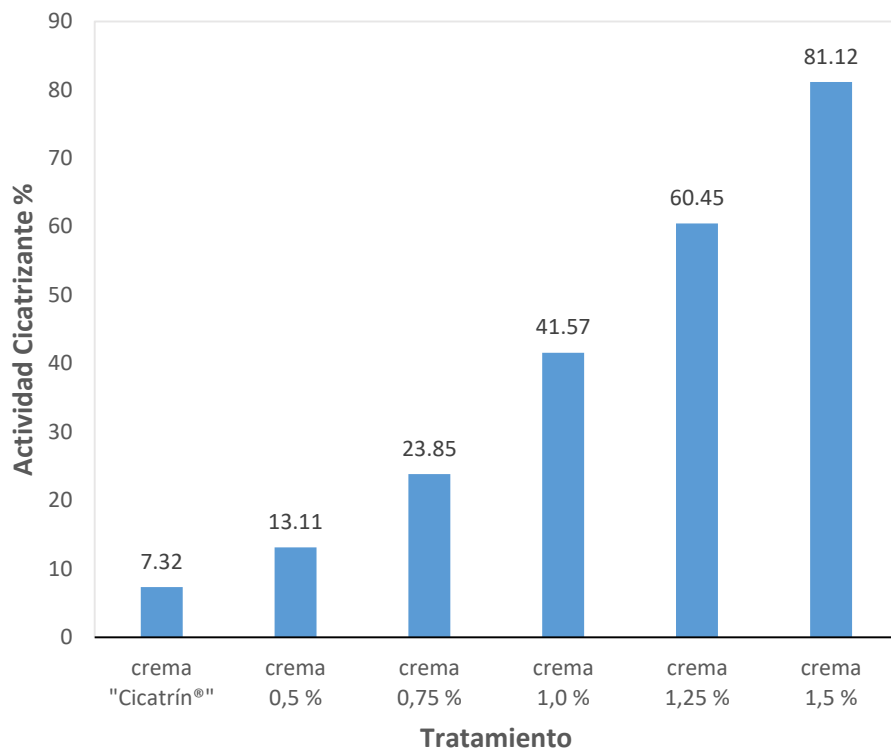


Figura 3. Porcentaje de actividad cicatrizante de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* "sangre de grado" y crema de marca comercial "Cicatrin®" en relación a la crema control. Ayacucho, 2010.

Tabla 7. Niveles medios y dispersión de la fuerza de tensión ejercida en los ensayos de determinación de la actividad cicatrizante de las cremas del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.

	N	Media	Desviación estándar DS	Error estándar ES	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	5	48,68	3,682	1,647	44,11	53,25	44,6	53,4
Control	5	51,58	2,188	0,978	48,86	54,30	48,5	54,1
Cicatrín®	5	55,36	4,701	2,103	49,52	61,20	49,8	61,4
Crema 0,5%	5	58,34	5,030	2,250	52,09	64,59	51,7	63,7
Crema 0,75%	5	63,88	6,222	2,783	56,15	71,61	56,3	71,6
Crema 1,0%	5	73,02	3,087	1,380	69,19	76,85	68,6	76,7
Crema 1,25%	5	82,76	4,798	2,146	76,80	88,72	76,8	88,0
Crema 1,5%	5	93,42	3,989	1,784	88,47	98,37	87,4	96,6
Total	40	65,88	15,560	2,460	60,90	70,86	44,6	96,6

Donde:

N = Número de datos obtenidos

Media = Promedio de las fuerzas de tensión en la determinación del efecto cicatrizante

DS = Desviación estándar

ES = Error estándar

CV = Coeficiente de variación o desviación de estándar relativa

Tabla 8. Prueba de Tukey del volumen de agua que rompe la tensión de la herida tratadas con las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.

		Volumen							
Factor	N	Subconjunto para alfa = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	
HSD Tukey ^a	Blanco	5	48,68						
	Base	5	51,58	51,58					
	Cicatrín	5	55,36	55,36	55,36				
	0,5%	5		58,34	58,34				
	0,75%	5			63,88				
	1,0%	5				73,02			
	1,25%	5					82,76		
	1,5%	5						93,42	
	Sig.		0,268	0,255	0,072	1,000	1,000	1,000	

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad evaluar la actividad cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”.

El uso de plantas en el tratamiento de enfermedades, basado en la medicina popular y sin estudios etnobotánicas ni etnofarmacológicos, no suele ir de la mano con un real conocimiento de sus propiedades terapéuticas y/o farmacológicas y de sus actividades, que ofrezcan parámetros que justifiquen y afirmen su aplicación como una aceptable alternativa.

Una de estas plantas es el *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”, de la cual se sabe, que se usa en la amazonia y en la medicina popular como cicatrizante para lesiones en la piel, y que la causante de esta propiedad es la taspina, un alcaloide que se encuentra en su composición química.

Debido a que existen poco trabajos de investigación sobre la actividad cicatrizante del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”, la elección de las concentraciones de las cremas usadas en este estudio, fueron al 0,5%; 0,75%; 1,0%; 1,25% y 1,5%; según bibliografía sobre esta especie del género *Croton*, como por ejemplo la del Q.F López, en el año 1999, quien elaboró formas farmacéuticas de aplicación tópica a base del extracto atomizado de *Croton lechleri* y así asegurar una actividad cicatrizante mínima y máxima dentro del presente trabajo de investigación. El proceso de la elaboración de la crema fue establecida en base a la características de solubilidad del extracto atomizado del látex.⁵⁸

En la tabla 1, se muestra que el látex inicialmente fue de 498g y después de la atomización se tuvo 41g teniendo como resultado el 8,23% de extracto atomizado. También se muestra las características organolépticas del látex de “sangre de grado” de color rojo vino, olor característico a madera, sabor astringente y aspecto viscoso.

En la tabla 2, se muestra las características organolépticas y fisicoquímicas del extracto atomizado de “sangre de grado” de color rojo ladrillo, olor característico, sabor astringente y aspecto a polvo homogéneo; la solubilidad que nos dio a conocer que el extracto atomizado y el alcohol etílico 96°, como el extracto atomizado y el cloroformo son muy solubles, no ocurriendo lo mismo con el agua que es poco soluble.

En la Tabla 3, se muestra los resultados obtenidos al realizar la Marcha Fitoquímica de metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” existiendo presencia predominante de alcaloides, taninos, flavonoides, azúcares reductores y saponinas, similar al estudio realizado por Risco y col, en el año 2003, en el Immunomodulatory activity and chemical characterization of SD (Dragon’s blood) from *Croton lechleri*.²⁶

En la Tabla 4 se presenta las características organolépticas de las cremas en estudio, en ella se aprecia el color de las cremas que varían de acuerdo a la concentración del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado”, todas ellas presentan un aspecto homogéneo lo que nos demuestra su buena estabilidad.

El pH para la crema base 6,98; la crema al 0,5% 6,37; la crema al 0,75% 6,16; la crema al 1% 5,99; la crema al 1,25% 5,88 y la crema al 1,5% 5,81; todos ácidos. Una crema de emulsión de tipo O/W aniónicas son inestables a un pH inferior a 5,00 como describe Fernández⁵⁴ en el año 1998 en Manual de Formulación Magistral Dermatológico, por tanto podemos decir que las cremas elaboradas a base del extracto atomizado del látex de sangre de grado, están dentro de las especificaciones que oscilan entre 5,00 a 7,50 como se menciona en los procedimientos de los laboratorios Markos (2004).⁵⁰

La determinación del pH es importante porque 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 de la crema y mantiene la integridad del factor hidratante natural. Por ello el pH del producto tópico tiene que acercarse al pH de la piel que se encuentra entre 4,0 a 6,5. Cuando éste se encuentra fuera del rango, puede provocar alteraciones no favorables a la piel, es por ello, que el ajuste de pH a este intervalo es de suma importancia al momento de formular la crema.⁵⁵

En la Tabla 5, podemos observar 2 métodos para determinar el tipo de emulsión, según el método por dilución las cremas en estudio son solubles en agua y presentan un aspecto homogéneo, es decir si presenta una dispersión homogénea en agua, decimos entonces que es una emulsión O/W. Por el otro método de colorantes nos muestra que al adicionar azul de metileno la fase externa es de color azul, es decir todo el campo se colorea uniformemente con algunos puntos refringentes, debido a que el azul de metileno es hidrosoluble. Y al adicionar el Sudan III que es liposoluble, el campo es incoloro y se observa puntos de color rojo. Por tanto decimos que las cremas son emulsiones O/W.

En la Figura 1; muestra que la crema base tiene mayor extensibilidad aplicando 500g de peso, con una extensibilidad de 60,52cm², seguido de la crema al 0,5% con 58,27cm², crema al 0,75% con 55,42cm²; crema al 1,0% con 53,19cm²; la crema al 1,25% con 51,31cm²; la crema al 1,5% con 49,14cm²; esto puede ser debido a que las formulaciones tienen diferentes cantidades agua. En este gráfico se puede observar que la extensibilidad es inversamente proporcional a la consistencia de las muestras y aproximadamente proporcional al peso aplicado (a mayor peso, mayor extensibilidad), lo cual sugiere que sólo una medición sería suficiente para caracterizarlas, Signorelli y col, en el año 2005, en la elaboración de una Crema para Uso Tópico a base de *Urtica Dioica L.*, menciona que la extensibilidad se puede definir como el incremento de superficie que experimenta una cierta cantidad de semisólido cuando se la somete a la acción de pesos crecientes, en intervalos fijos de tiempo.⁵⁶

En la Tabla 6, se presenta los resultados de la irritabilidad dérmica de las cremas formuladas, nos muestra que a las 24 horas no se observó ningún tipo de eritema ni edema para la forma farmacéutica en estudio, de igual manera a las 72 horas, por tanto, aplicando la escala de Draize se clasifican estas cremas como no irritantes. Rodríguez y col, en el año 1996, en la Prueba de Irritabilidad Dérmica primaria del *Plantago major L.* menciona que dentro del campo de la toxicología se encuentra la toxicidad aguda que incluye el test de irritabilidad dérmica descrito por Draize, esta prueba brinda información sobre los efectos adversos que puede observarse luego de la aplicación dérmica del producto ofrece datos de toxicidad inicial para fines de regulación calificación, clasificación, transportación y estudios posteriores de toxicidad crónica y subcrónica dérmica del producto.⁵⁷

En la Figura 2, se muestra los valores del volumen de agua que rompe la tensión de la incisión realizada en los ratones. Observamos que hay una variación dosis respuesta en las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de la SG; la crema al 1,5% de “sangre de grado” rompe la tensión con 93,42ml y es estadísticamente mayor a la crema de marca comercial Cicatrín® con 55,36ml y a los demás tratamientos ($p < 0,05$).

En la tabla 7 se presenta los niveles medios y dispersión de la fuerza de tensión ejercida en los ensayos de determinación de la actividad cicatrizante de las cremas del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado” donde el promedio de las fuerzas de tensión de la crema Blanco es 48,68ml; la crema Control es 51,58ml; Cicatrín es 55,36ml; la crema al 0,5% es 58,34ml; la crema 0,75% con 63,88ml; la crema al 1,0% con 73,02ml; la crema al 1.25% con 82,76ml; la crema al 1,5% con 93,42ml.

La absorción percutánea de medicamentos es un proceso complejo, pero se pueden generalizar diciendo que hay una mayor absorción cuando se aplica en un área superficial más grande y con formulaciones que aumentan la hidratación de la piel. La mayor actividad cicatrizante de la crema al 1,5% se debe a que estas son oclusivas es decir hidratan el estratum corneum y así aumentan la penetración del atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”, Este estudio ha demostrado que el extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado” tiene actividad cicatrizante y la crema que posee mayor actividad cicatrizante es la de 1,5% y es una crema de emulsión O/W.

En el estudio se halló que la crema del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado” al 1,5% posee la mayor actividad cicatrizante, en comparación a las cremas del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado” al 1,25%; 1,0%; 0,75%; 0,5% y la crema de marca comercial Cicatrín® después de 72 horas de tratamiento (Figura 3). Existiendo diferencia al resultado obtenido con la crema del extracto atomizado de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado” al 1,0%, donde el Q.F. López, en el año 1999, elaboró formas farmacéuticas de aplicación tópica a base del extracto atomizado de *Croton lechleri* que nos indica que fue la que obtuvo la mayor actividad cicatrizante después de 48 horas de tratamiento.⁵⁸

En la determinación de la actividad cicatrizante se trabajó con las cremas conteniendo las diferentes concentraciones del extracto atomizado del látex de

Croton lechleri Müll. Arg. “sangre de grado”, comparándolas con un grupo blanco, un grupo control y un grupo estándar; demostrando que poseen actividad cicatrizante las cremas; comprobándose que existe una diferencia significativa en la actividad cicatrizante de los 5 grupos de las cremas con el extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado”, el tratamiento a los ratones se desarrolló por un período de 72 horas y se administró las forma farmacéutica dos veces al día.

La tabla 7, nos indica que el grupo de la Crema con extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” al 1,0%, nos presenta una mayor confiabilidad, según el coeficiente de variación; no obstante el grupo de la crema con extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” al 1,5% presentó una mayor tasa promedio.

Los resultados demuestran que las muestras clasificadas y utilizadas son independientes y proceden de la misma población. Además los resultados de la tensión, obtenidas son estadísticamente significativas, resultados que se confirman con el análisis de varianza, que presenta un valor de significancia ($p=3,276E^{-17}$) es decir que el análisis de varianza (ANOVA) nos muestra diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) entre las medias de fuerzas de los tratamientos a un nivel de 95%.

En el análisis estadístico de Tukey (Tabla 8), en la cual se determinó que el tratamiento con la crema comercial “Cicatrín®” es estadísticamente similar a la crema del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” al 0,5% y diferente a las concentraciones 0,75%; 1,0%; 1,25% y 1,5%. Por otro lado la crema del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” al 0,5% es estadísticamente a la crema del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” al 0,75% y diferente a las concentraciones de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” al 1,0%; 1,25% y 1,5%. También podemos observar que la crema del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” al 1,0% es diferente a la crema del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” al 1,25% y 1,5%, y la crema del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” al 1,25% es estadísticamente diferente a la crema del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado” al 1,5%. El mayor efecto cicatrizante de la crema elaborada

con el extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado” es al 1,5%

VI. CONCLUSIONES

- La crema elaborada a base del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado” tiene actividad cicatrizante.
- El extracto atomizado tiene un olor característico, sabor amargo, color rojo ladrillo y aspecto a polvo fino homogéneo. Es poco soluble en agua y soluble en metanol y cloroformo, tiene pH ácido, con una humedad de 8,70% y 3,43% de cenizas totales y con presencia de alcaloides, taninos, flavonoides, azúcares reductores y saponinas.
- La crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado” presenta un color crema que varía de acuerdo a la concentración del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”, olor graso y de aspecto homogéneo; el pH de la crema es ácido, variando desde 6,37 al 0,5% hasta 5,81 al 1,5%.
- Las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado” tiene mayor efecto cicatrizante que la crema estándar Cicatrín y la concentración óptima de la crema elaborada fue del 1,5%.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar el estudio de estabilidad de la crema O/W elaborado a base de extracto atomizado del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.*
2. Continuar con los estudios y comprobar otras propiedades farmacológicas atribuidas a esta especie vegetal.
3. Continuar con estudios de actividad biológica, enfocada no sólo a la salud humana sino también para animales y plantas, aspecto no explorado todavía.
4. Identificar y cuantificar los distintos alcaloides responsables de la actividad cicatrizante, por medio de tecnología más sofisticada.
5. Indagar e investigar sobre las propiedades anticancerígenas y antitumorales de *Croton lechleri Müll. Arg.*

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jaramillo S. Naturismo como sistema sanitario social. Barcelona: Léima, 1989: 1-101.
2. Infantes AY. Tratamiento de la gingivitis marginal crónica con pasta dental de *Caesalpinia spinosa* (Molina) KUNTZE "TARA" en niños de 8 a 10 años. Tesis Bachiller. Fac Odontol: Univ San Martín de Porres. Lima. 2004.
3. Sund B. New developments in wound care. London, UK: PJB Publications. (Clinica Report CBS 836). 2000; 1 - 255.
4. Wanda A, y Dorsette M. Rat models of skin wound healing: A review. *Wound Repair and Regeneration*, 2004. 12: 591-599.
5. Hardman J y Limbird L. 2001. "Las bases farmacológicas de la terapéutica". Décima edición. Editorial Mc Graw Hill. México.
6. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Pautas para el conocimiento, conservación y uso sostenible de las plantas medicinales nativas en Colombia. Estrategia Nacional para la conservación de plantas. [Internet] 2007; [citado 5 de octubre del 2016]. Disponible en: <http://www.humboldt.org.co/es/component/k2/item/393-pautas-para-el-conocimiento-conservacion-y-uso-sostenible-de-las-plantas-medicinales-nativas-en-colombia-estrategia-nacional-para-la-conservacion-de-plantas>
7. Equipo de salud Parroquia Jesús Obrero. Aprendamos a curarnos con plantas. Ed. Tarea, 1986; 34.
8. Cerrutti T. Plantas Medicinales. Cultivo, importancia y formas de uso. EsSalud – IMET Iquitos, 2000; 72-3
9. Avalos DM, Cabanillas ML. Estudio fitoquímico del látex de *Croton lechleri* "sangre de grado" y ensayo del efecto antibacteriano "in vitro" de su extracto hidroalcohólico [Tesis]. Farmacia Universidad Nacional de Trujillo, 1994.
10. Vargas L, Vargas R, Naccarato P. De Salvia y Toronjil. Guía de Medicina Natural para la Salud de la Mujer. Lima: Ed. Gráfico Bellido, 1995;158
11. Marcelo AJ, Calderón C, Medina D, Valencia M, Pariona M, Meza. Desarrollando Nuestra Diversidad Biocultural "Sangre de grado" y el Reto de su Producción Sustentable en el Perú. Lima: Gráficos S.R.Ltda, 1 999.
12. Mostacero J, Mejia F, Araujo E. Botánica. Trujillo, 1 995; 155- 6. 2' ed.
13. Farnsworth N. R. Biodiversity. Wislson, National Academy Press, Washington. 1998. 83 – 97.
14. OMS. Estrategias de la OMS sobre la medicina tradicional 2002-2005. OMS, Ginebra, Suiza. 2002
15. Cornejo, A. Las Plantas y sus utilidades. Facultad de Ciencias Biológicas. Dirección Universitaria de Investigación. Área Botánica UNSCH. Ayacucho. Perú.1986
16. Font Quer P. Plantas Medicinales.6ª ed. Barcelona: Editorial Labor; 1980.
17. Ayala S, Rojas J, Díaz D, Juárez J, Delgado C. Evaluación de la toxicidad vaginal de *Croton lechleri* en conejas. *Anales de la Facultad de Medicina*. [Internet] 2010; [citado 5 de octubre del 2016]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/78>
18. Arbildo Tello L, Pérez Macedo J. "Rendimiento de la Taspina aislada de 2 muestras de *Croton lechlerii* (Sangre de grado) de las Cuencas del Bajo Nanay y Alto Napo respectivamente [tesis]. Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2014.
19. Allaica Tenesaca N. "Comparación del efecto cicatrizante de tinturas elaboradas a base de guarango (*Caesalpinia spinosa*) y sangre de grado

- (*Croton lechleri*) aplicados en ratones (*Mus musculus*)” [tesis]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba; 2015.
20. Barboza Mejia L. “Efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* “Sangre de Drago”. Revista Científica Ciencia Médica [Revista en línea] 2015; [citado 5 de octubre del 2016]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/pdf/rccm/v18n1/v18n1_a03.pdf
 21. Cronquist A. An Integrated System of Clasiffication of Flowering Plants. Columbia University Press. Nueva York. Estados Unidos. 1988
 22. Alonso JR. Tratado de fitomedicina bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: Ed. ISIS ediciones SRL, 1 998; 868-70.
 23. Tamariz J, Capcha R, Palomino E, Aguilar J. Actividad antibacteriana de la Sangre de Grado (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*. *Revista Medica Herediana*. [Internet] 2003 [citado 10 de octubre del 2016] 14(2), 81-88. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v14n2/v14n2ao6.pdf>
 24. Prado L y Valdebenito H. Contribución a la Fonología de Especies Forestales Nativas Andinas de Bolivia y Ecuador. Intercooperation. Quito-Ecuador; 2000. 65-67.
 25. Rengifo Salgado Elsa, Las Ramas Floridas del Bosque. Experiencia en el Manejo de Plantas Medicinales Amazónicas. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana. Iquitos [Revista en Internet] 2003 [consultado el 13 de octubre del 2016] (55-57) Disponible en: http://www.academia.edu/8170811/INSTITUTO_DE_INVESTIGACIONES_DE_LA_AMAZON%C3%8DA_PERUANA
 26. Risco E, Ghia F, Vila R, Iglesias J, Alvarez E, Cañigüeral S. Immunomodulatory activity and chemical characterization of SD (Dragon’s blood) from *Croton lechleri*. *Planta Med*. 69(9): 785-794. 2003.
 27. Agapito T, Sung I. Fitomedicina 1100 plantas medicinales. Ed. Isabel. Lima 1998
 28. Lobardo J. Diccionario Médico. Ediciones Doyna (400). España, 1994.
 29. Vaisber A, Millan J. Taspine in the Cicatrizant Principle in Sangre de Grado Extracte from (*Croton lechleri*). 1989. Córdoba. *Planta Med*. Vol. 55 (2): 140 – 143.
 30. Huapaya J, Flórez M, Larrea H. Control microbiológico y evaluación de la Actividad antibacteriana *in vitro* de *Croton lechleri* “sangre de grado”. Facultad de Medicina Humana. USMP. Lima, 2003.
 31. Puebla P, Guerreo M, Correa S. Flavonoides del Género *Croton*. *Revista Colombiana de Ciencias Químicas Farmacéuticas*. 2004; 33(1): 77-85.
 32. Tirado N, Carvajal R, Romero L. Efectos genotóxicos y antigenotóxicos de la savia de *Croton dracooides*. *BIOFARBO*. UMSA: Facultad de Medicina. Bolivia, 2000; 8: 71-76.
 33. Herforth, Anna Whitson. Antifungal Plants of the Peruvian Amazon. A survey of Medicinal uses and biological activity of plants. [Tesis Cornell University] U.S.A. 2002.
 34. Reynel, C; Pennington, T; Pennington, D; Flores, C; Daza, A. Árboles útiles de la Amazonia peruana. 1era edición – Perú 2003.
 35. Libertucci M. Secado por atomización [Internet]. [consultado 17 de octubre del 2016]. Recuperado a partir de: <http://mariolibertucci.blogspot.pe/2013/08/secado-por-atomizacion.html>
 36. Curtis, M. Farmacología Integrada Fisiopatología y enfermedades de la Piel. Editorial Harcourt.- España,1998.
 37. Duce A. Patología Quirúrgica. Editorial Elsevier: España, 2004
 38. Lewis S, Heitkemper M, Dirksen S. Enfermería medicoquirúrgica. 6^{ta} Edición, Volumen I. Editorial Elsevier: España,2004

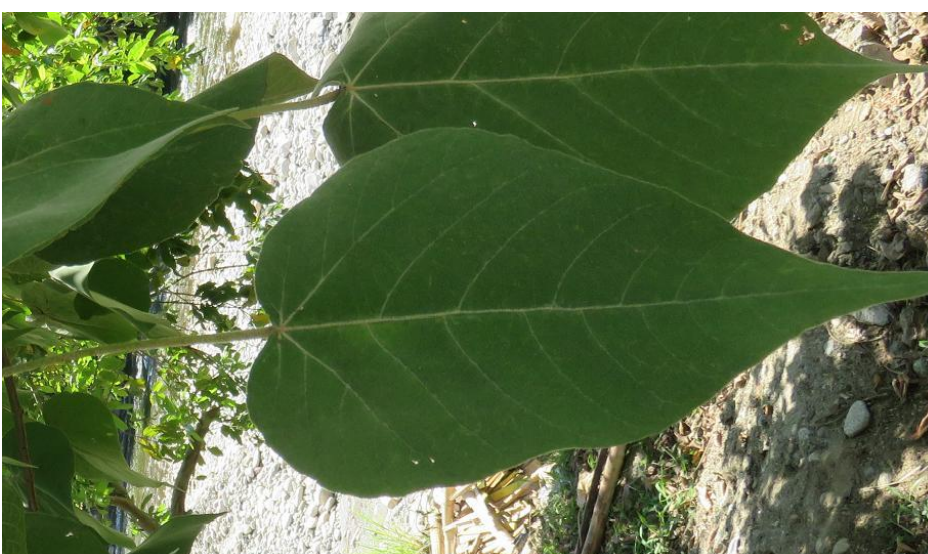
39. Flore I. Manejo avanzado de heridas. Revista Mexicana de enfermería cardiológica.2006; 14(1): 24-28
40. Ramírez G. Fisiología de la cicatrización cutánea. Revista Facultad de salud – Universidad de Sur colombiana. 2010; (282): 69-78.
41. Valencia, C. Proceso de reparación tisular, aproximaciones terapéuticas. Investigaciones Andinas – Colombia. 2010; 12(20): 85-98.
42. ETHICON Wound Closure Manual.2008 Fundación Dr. Jordi Mas. [internet]. [Consultado 13 de octubre del 2016]. Disponible en: http://web.intercom.es/jorgemas/Libro_Sutura.pdf
43. Benavides J. Reparación de heridas cutáneas. Revista de la asociación colombiana de dermatología. 2008; 16(1): 29-35.
44. Pharmacopeia europea, 8va Edición 2013
45. Farmacopea de los Estados Unidos de América y Formulario Nacional (USP 37-NF 31). Maryland. The United States Pharmacopeia Convention. 2014.
46. Aulton M. Farmacia la Ciencia del Diseño de las Formas Farmacéuticas, 2ª. Edición, Editorial Elsevier. España, 2004.
47. Miranda Martínez M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Ciudad Habana Editor Pueblo y Educación [Internet]. 2002. [consultado el 17 de octubre del 2016].Disponible en: <http://documents.mx/documents/metodos-de-analisis-de-drogas-y-extractos-de-dra-migdalia-miranda-martinez.html>
48. Miranda M, Cuéllar A. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos Naturales.La Habana .Editorial Félix Varela. 2000; 44-9.
49. Soler Roger DM, Rodríguez Perdomo YR, Pérez Bueno T, Riverón Alemán Y, Morales Lacarrere IG. Estabilidad acelerada de un gel de *Rhizophora mangle* L.(mangle rojo) para heridas y quemaduras. Rev Cuba Farm [Revista en Internet]. 2011. [consultado 17 de octubre de 2016]. 45(4):563-74. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol45_4_11/far11411.htm
50. Laboratorios Farmacéuticos Markos. Procedimientos de Operación Estándar; Fabricación de Productos semisólidos No estériles. Lima. 2004.
51. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Dirección General de Control de Insumos para la Salud – Secretaria de Salud. 5ª edición México.1988.
52. Unidad de evaluación biológica. Protocolo de irritabilidad dérmica primaria. La Habana: CIGB-CQF, 1991
53. Arroyo J, Rojas J. Chenguayen J. Manual de Modelos Experimentales de Farmacología. Lima – Perú, 2004.
54. Fernández E. Manual de Formulación Magistral Dermatológico. Editorial E. Alía. Madrid, 1998.
55. Salvat J. La piel. Enciclopedia Salvat de la Salud. Tomo 7, 94-98. Barcelona, España; 1983.
56. Signorelli L, Isla M. Elaboración de una Crema para Uso Tópico a Base de *Urtica dioica* L. “Revista de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Volumen 47 (2) Universidad de los Andes: Mérida – Venezuela. 2005
57. Rodríguez A, León M, Hernández A, Junco J. Prueba de Irritabilidad Dérmica primaria del *Plantago major* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales 1 (3):46-48. Camaguey; 1996.
58. López, L. Elaboración de una forma farmacéutica de aplicación tópica con efecto cicatrizante a partir del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* – “sangre de grado”. Tesis Químico Farmacéutico. Lima. Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM; 1999.
59. Daniel, W. “Bioestadística: Base para el análisis de las Ciencias de la Salud”. Editorial Limusa. México. 1996.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de hojas y flores de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”. 2010.



Anexo 2. Fotografías de plántones y hojas de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". 2010.



Anexo 3. Reconocimiento y extracción del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". 2010.



Anexo 4. Certificado de identificación del *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Sr. Hugo, ARELLANO RIVERA**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	EUPHORBIALES
FAMILIA	:	EUPHORBIACEAE
GÉNERO	:	Croton
ESPECIE	:	<i>Croton lechleri M. Arg.</i>
N.V.	:	"sangre grado"

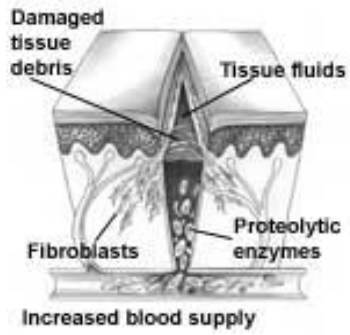
Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 11 de Setiembre del 2010

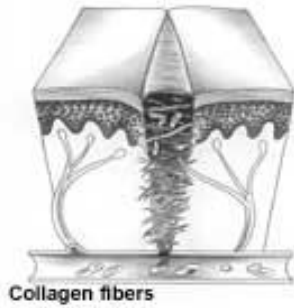
UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Blga. Lucastine Medina
JEFE

Anexo 5. Fases del proceso de cicatrización⁴²



Fase 1 Respuesta Inflamatoria y proceso de debridación.



Fase 2 Formación de colágeno (cicatriz),

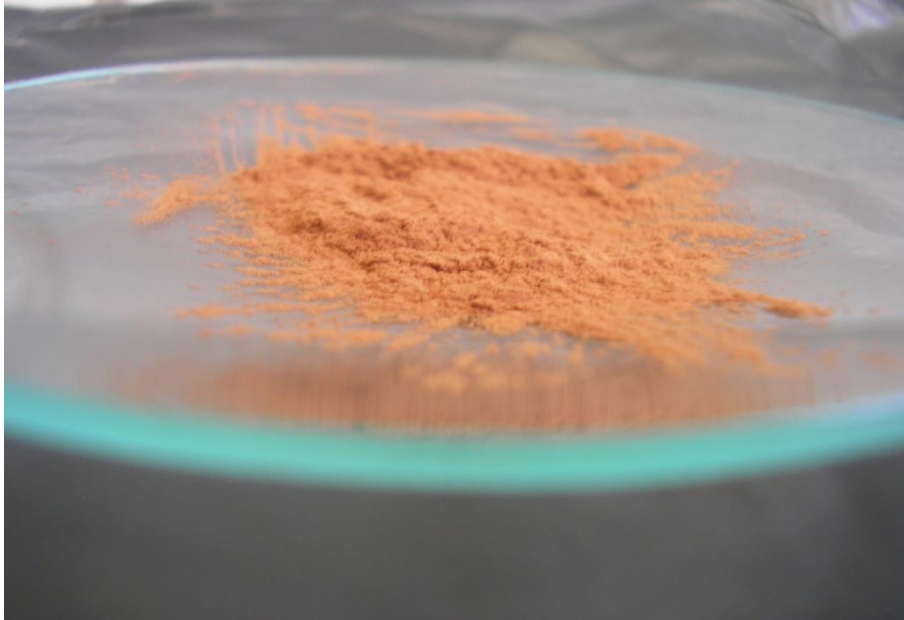


Fase 3 Suficiente colágeno depositada.

Anexo 6. Proceso de atomización del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.



Anexo 7. Látex atomizado de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”.
Ayacucho, 2010.



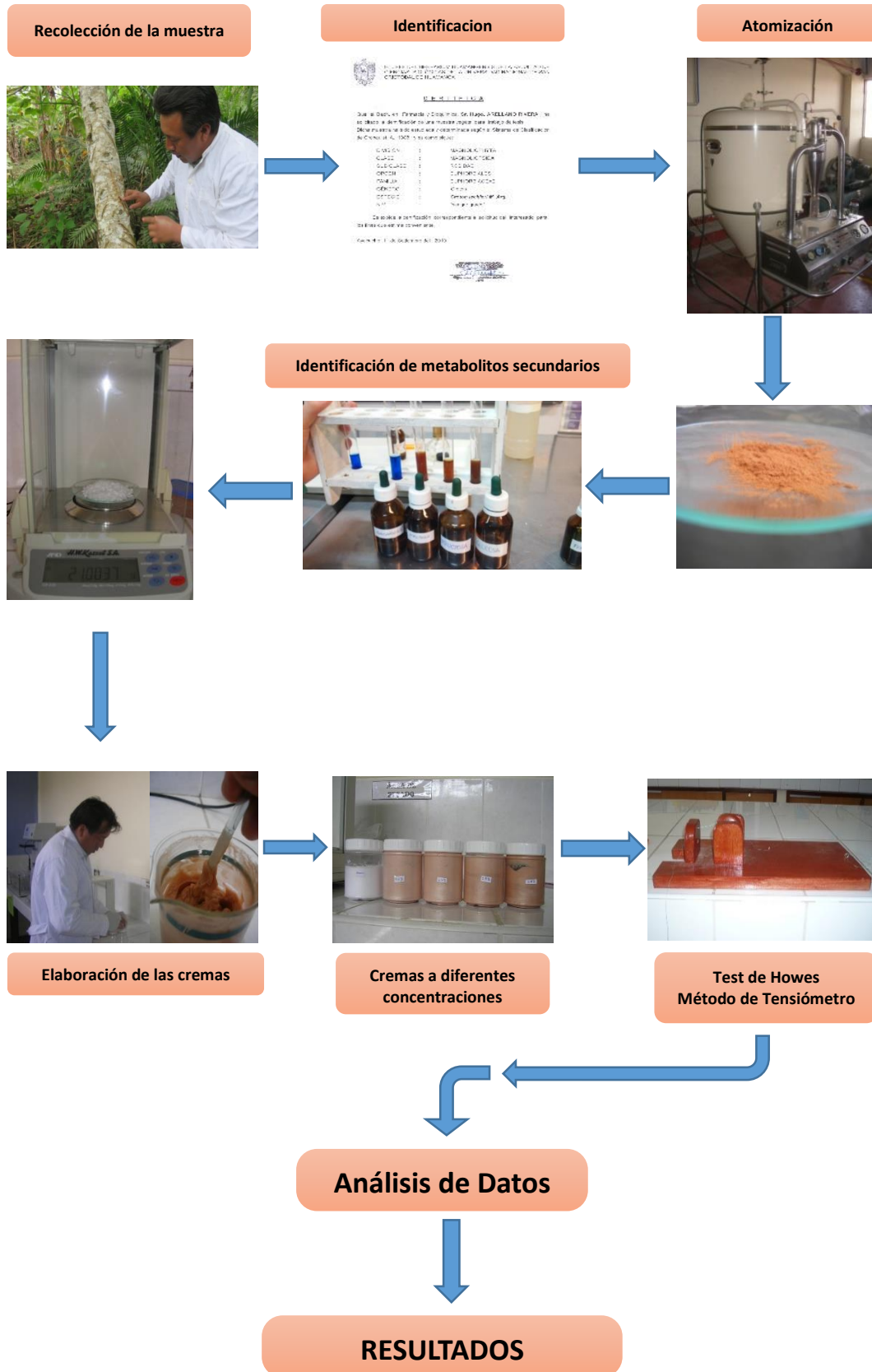
Anexo 8. Proceso de elaboración de cremas a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado" a diferentes concentraciones. Ayacucho, 2010.



Anexo 9. Elaboración de las cremas a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado" a diferentes concentraciones. Ayacucho, 2010.



Anexo 10. Proceso para la Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto atomizado del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado" Ayacucho, 2010.



Anexo 11. Comparación de la actividad cicatrizante de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”, crema de marca “Cicatrín”; en relación al grupo control. Ayacucho, 2010.

Sustancia Aplicada	Actividad Cicatrizante %
Crema de marca "Cicatrín®"	7,32
Crema del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. al 0,5%	13,11
Crema del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. al 0,75%	23,85
Crema del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. al 1,0%	41,57
Crema del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. al 1,25%	60,45
Crema del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. al 1,5%	81,12

Anexo 12. Comparación de la actividad cicatrizante de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. “sangre de grado”, crema de marca “Cicatrín” y crema control; en relación al grupo blanco. Ayacucho, 2010.

sustancia aplicada	actividad cicatrizante %
Crema control	5,96
Crema de marca comercial "Cicatrín®"	13,72
Crema del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. al 0,5 %	19,84
Crema del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. al 0,75 %	31,06
Crema del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. al 1,0 %	50,00
Crema del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. al 1,25 %	70,01
Crema del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> M. Arg. al 1,5 %	91,91

Anexo 13. Fuerza de tensión ejercida por el grupo blanco, crema base, crema “Cicatrín®”, y cremas de diferentes concentraciones elaboradas a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado”. Ayacucho, 2010.

# de animales	Fuerza de tensión ejercida (expresado en ml)							
	Blanco	Crema control	Cicatrín®	0,5%	0,75%	1,0%	1,25%	1,5%
N° 01	50,3	48,5	58,9	61,8	59,9	74,9	76,8	96,6
N° 02	44,6	51,3	61,4	54,6	56,3	71,8	79,1	87,4
N° 03	45,3	54,1	52,9	51,7	63,1	76,7	86,7	96,4
N° 04	49,8	53,2	49,8	63,7	68,5	73,1	88	91,3
N° 05	53,4	50,8	53,8	59,9	71,6	68,6	83,2	95,4
x	48,68	51,58	55,36	58,34	63,88	73,02	82,76	93,42
DS	3,68	2,19	4,70	5,03	6,22	3,09	4,80	3,99
CV	7,564	4,242	8,492	8,622	9,740	4,227	5,798	4,270

Donde:

X = Promedio de las fuerzas de tensión en la determinación del efecto cicatrizante

DS = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación o desviación de estándar relativa

Anexo 14. Análisis de varianza para contrastar los Niveles medios y dispersión de la fuerza de tensión ejercida en los ensayos de determinación de la actividad cicatrizante de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* “sangre de grado”. Ayacucho, 2010.

Volumen

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8831,088	7	1261,584	65,998	3,27602E ⁻¹⁷
Intra grupos	611,696	32	19,116		
Total	9442,784	39			

Anexo 15. Prueba de Duncan del volumen de agua que rompe la tensión de la herida tratadas con las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado". Ayacucho, 2010.

		Volumen							
Factor	N	Subconjunto para alfa = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	
Duncan ^a	Blanco	5	48,68						
	Base	5	51,58	51,58					
	Cicatrín®	5		55,36	55,36				
	0,5%	5			58,34	58,34			
	0,75%	5				63,88			
	1,0%	5					73,02		
	1,25%	5						82,76	
	1,5%	5							93,42
	Sig.		0,302	0,181	0,289	0,054	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

Anexo 16. Certificado Sanitario emitido por el Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud, 2010.

		INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO	
CERTIFICADO SANITARIO N°		157-2010	
Producto :	Ratón albino	Lote N° :	M - 29 - 2010
Especie :	<i>Mus musculus</i>	Cantidad :	70
Cepa :	Balb/c/CNPB	Edad :	1 mes 1/2
Peso :	Mayores a 25 g	Sexo :	Machos
Boleta de venta N° :	004-12793 G.R. 021852	Destino :	Hugo Arellano Rivera Ayacucho
Fecha :	13-07-10		
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : P.R.T.-CNPB-153, Procedimiento para el Ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p>			
Chorrillos, 13 de Julio del 2010 (Fecha de emisión del certificado)			
NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.		 M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586	

Anexo 17. Equipo de Tensiómetro.



Anexo 18. Procedimiento del Test de cicatrización, determinación del efecto cicatrizante. Ayacucho, 2010.



Anexo 19. Escala descrita por Draize para la evaluación de las lesiones en la piel.⁵²

1. Eritema y formación de escaras:	
Si no aparece nada	0
Muy ligero el eritema (poco perceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado a severo	3
Eritema severo con formación de úlceras y costras	4

2. Formación de edemas:	
Si no hay edema	0
Edema poco perceptible	1
Edema ligero (bordes o áreas bien definidas por elevación de la piel)	2
Edema moderado (área elevada de aproximadamente 1 mm)	3
Edema severo (elevación de más de 1 mm que se extiende más allá del área de exposición)	4

Anexo 20. Matriz de consistencia

Título: Evaluación de actividad cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. "sangre de grado" Ayacucho, 2010.

Autor : Arellano Rivera, Hugo

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Evaluación de la actividad cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado" Ayacucho 2010.	¿Tendrá actividad cicatrizante la crema elaborada a base del extracto atomizado de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado"?	<p>Objetivo General Evaluación de la actividad cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado"</p> <p>Objetivos Específicos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". 2. Evaluar los parámetros fisicoquímicos de la crema elaborado a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado" 3. Comparar el efecto cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado" a diferentes concentraciones con el estándar (Cicatrín). 4. Determinar la concentración óptima del efecto cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". 	<p>Antecedentes Clasificación Taxonomía Reino : Plantae División: Magnoliophyta Clase : Magnoliopsida Orden : Euphorbiales Familia : Euphorbiaceae Género : Croton Especie: <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. Nombres comunes: Sangre de grado</p> <p>Descripción Distribución geográfica Composición química Propiedades medicinales Proceso de atomización Fisiología de la Piel Heridas Cicatrización Fases de la cicatrización a) Hemostasia b) Fase inflamatoria c) Fase proliferativa d) Fase de maduración y remodelación</p>	La crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado", posee actividad cicatrizante.	<p>Variable Independiente: Crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado", posee actividad cicatrizante.</p> <p>Variable Dependiente: Actividad cicatrizante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado" a diferentes concentraciones.</p> <p>Relación entre Variables La actividad cicatrizante depende de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto atomizado de látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado".</p> <p>Indicador:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diferentes concentraciones de crema al 0,5%; 0,75%; 1,0%; 1,25 % y 1,5 %. • Días administrados con las distintas concentraciones. • Mililitros de agua necesarios para abrir la herida cicatrizada. 	<p>Tipo de estudio: Aplicado Nivel de estudio: Experimental Diseño muestral: Población: arboles de <i>Croton lechleri</i> "sangre de grado" de la comunidad de Kimiriki, Distrito de Pichanaqui, Provincia de Chanchamayo, departamento de Junín, situado a 945 m.s.n.m. Muestra: 500 ml de látex de <i>Croton lechleri</i> "sangre de grado" extraído al azar de 6 árboles maduros en un radio de 2000 m² aproximadamente. Unidad experimental: 40 ratones machos albinos. Diseño experimental: Diseño completamente randomizado. Método: Se obtiene el extracto atomizado del látex de <i>Croton lechleri</i> Müll. Arg. "sangre de grado". y se elaboran las cremas a diferentes concentraciones Se evaluarán los parámetros físico y químicos de la crema. Evaluación del efecto cicatrizante por el método</p> <p>TEST DE CICATRIZACIÓN POR EL MÉTODO DE HOWES.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Se depiló el lomo y pesó a los ratones. 2. Se anestesió al animal. 3. Se afrontaron los bordes de la herida con un punto de sutura de nudo triple. 4. Se administró la 1ra dosis del tratamiento. Esto se repitió cada 12 horas. 5. Pasadas las 72 horas. se procedió a sacrificar al ratón con una sobredosis de Fenobarbital Sódico. 6. Se quitó el punto de sutura y se colocó sobre el aparato de tensión. 7. Luego se determinó el porcentaje de la actividad cicatrizante. $\% \text{ Act.} = \frac{x_{\text{tto}} - x_c}{x_c} \times 100$ <p>Porcentaje por Actividad.- Es la expresión de la resistencia que muestra la cicatriz al ser sometido a una tensión, y que se expresa en porcentaje de la siguiente manera: Donde: x_{tto} = Volumen de agua que rompe la tensión de la herida del grupo tratado. x_c = Volumen de agua que rompe la tensión de la herida del grupo control. El análisis estadístico está representado por cuadros, se construirá diagrama de cajas. Se utilizará el análisis de varianza de una vía con un nivel de confianza de 95% ($\alpha=0,05$), comparación de medias por el método de Tukey.</p>