



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE *Calycophyllum spruceanum*
(Capirona de bajo) EN RATONES ALBINOS**

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

AUTORES:

Bach. ZEVALLOS ESCALANTE, RUTH VIOLETA

Bach. LABAJOS TANANTA, GINA ISABEL

ASESOR:

Dr. VÍLCHEZ CÁCEDA, HÉCTOR ALEXANDER

LIMA – 2021

DEDICATORIA

A mi padre Dios que siempre está conmigo por regalarme esperanza en los momentos de dificultad.

Ruth Violeta Zevallos Escalante

A Dios quien fue una guía importante en mi carrera y no me dejó rendirme en tiempos difíciles. A mi madre quien siempre me alentó a seguir mis sueños y me dio su fortaleza para seguir adelante. A mi esposo, mi hija, mi padre y mi hermana, que estuvieron a mi lado brindándome su apoyo incondicional en esta etapa importante de mi vida.

Gina Isabel Labajos Tananta

AGRADECIMIENTO

A la Universidad María Auxiliadora por acogernos como suyos, para poder culminar con nuestros estudios el sueño anhelado por todo estudiante.

Al Doctor Héctor Alexander Vílchez Cáceda por su inagotable paciencia, apoyo, disposición, consejos para alentarnos a seguir y culminar con lo emprendido.

A mi esposo e hijos porque junto a ellos aprendí a vivir esta increíble aventura y a todos nuestros familiares que nunca dejaron de apoyarnos gracias por vernos crecer.

Bach. Ruth Violeta Zevallos Escalante

Bach. Gina Isabel Labajos Tananta

Índice General

	Págin as
Resumen	ix
Abstract	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	7
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	7
2.2 Población, muestra y muestreo	7
2.3 Variables de investigación	8
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	9
2.5 Proceso de recolección de datos	9
2.6 Métodos de análisis estadístico	14
2.7 Aspectos éticos	14
III. RESULTADOS	15
IV. DISCUSIÓN	31
4.1 Discusión de resultados	31
4.2 Conclusiones	34
4.3 Recomendaciones	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	45

Índice de Tablas

Tabla 1. Determinación del índice afrosimétrico	15
Tabla 2. Determinación del pH del extracto	15
Tabla 3. Solubilidades del extracto	16
Tabla 4. Marcha fitoquímica	17
Tabla 5. Actividad cicatrizante del grupo tratado con extracto hidroalcohólico de capirona al 2,5 %	18
Tabla 6. Actividad cicatrizante del grupo tratado con extracto hidroalcohólico de capirona al 5 %.	18
Tabla 7. Actividad cicatrizante del grupo tratado con extracto hidroalcohólico de capirona al 10 %.	19
Tabla 8. Actividad cicatrizante del grupo tratado con extracto hidroalcohólico de capirona al 20 %.	19
Tabla 9. Actividad cicatrizante del grupo tratado con Bepanthen (control positivo)	20
Tabla 10. Actividad cicatrizante del grupo sin tratamiento (control negativo)	20
Tabla 11. Comparación de la cicatrización total de los diferentes grupos de tratamiento	21
Tabla 12. Ficha de registro del peso en gramos de los ratones	22
Tabla 13. Estadística descriptiva	23
Tabla 14. Prueba de Normalidad	24
Tabla 15. Análisis de varianza (ANOVA)	25
Tabla 16. Diferencia honestamente significativa de Tukey	27
Tabla 17. Subconjuntos homogéneos	29

Índice de Figuras

Figura 1. Especie vegetal	56
Figura 2. Recolección de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo).	56
Figura 3. Secado de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo).	57
Figura 4. Pesado de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo).	57
Figura 5. Molienda de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo).	58
Figura 6. Prueba de solubilidad de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo).	58
Figura 7. Marcha fitoquímica de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo)	59
Figura 8. Maceración y extracción del principio activo.	59
Figura 9. Reducción del principio activo.	60
Figura 10. Melcocha en estado de gel.	60
Figura 11. Proceso de secado de la melcocha.	61
Figura 12. Obtención del extracto hidroalcohólico de capirona a diferentes concentraciones.	61
Figura 13. Proceso de selección y aclimatación de los especímenes	62
Figura 14. Administración de Ketamina para el anestesiado de los especímenes.	62
Figura 15. Depilación del lomo del ratón.	63
Figura 16. Medición y marcación del área (1 cm) de los especímenes.	63
Figura 17. Realización de la incisión en el lomo del ratón.	64
Figura 18. Administración vía tópica del extracto hidroalcohólico de capirona a los diferentes grupos de estudio.	64
Figura 19. Realización de la prueba del dinamómetro	65

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Cajas y Bigotes de los grupos en tratamiento	30
--	----

Índice de Anexos

Anexo A. Matriz de consistencia	46
Anexo B. Operacionalización de la variable	47
Anexo C. Instrumento de recolección de datos	48
Anexo D. Clasificación taxonómica	54
Anexo E. Constancia de bioterio de productos biológicos	55
Anexo F. Evidencias fotográficas del trabajo de campo	56

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo) en ratones albinos *Mus musculus*.

Métodos: Se realizó el método de estudio experimental. La muestra fue recolectada del departamento de Madre de Dios, provincia de Tambopata km 8 carretera de Infierno; con siete grupos en total y una muestra de 42 ratones *Mus musculus var. Albinos Balb/c/CNPB*. Se aplicó el método tensiométrico (Vaisberg), el análisis del test de cicatrización se realizó mediante instrumentos de recolección de datos con el programa estadístico SPSS 26.

Resultado: El extracto hidroalcohólico presentó actividad cicatrizante en concentraciones de 5 % y 10 % similares a las del grupo de control positivo (Bepanthen) a diferencia de los grupos 2,5 %, 20 % y control negativo que presentaron una menor actividad cicatrizante.

Conclusiones: Los metabolitos secundarios detectados en el extracto hidroalcohólico de la corteza de capirona fueron flavonoides, taninos y compuestos quinónicos, los que en conjunto serían los responsables de brindar la actividad cicatrizante. La actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de la corteza de capirona al 5 % fue similar al estándar de marca de referencia o control positivo (crema Bepanthen) en ratones albinos *Mus musculus*.

Palabras claves: *Calycophyllum spruceanum*, flavonoides, taninos, actividad cicatrizante.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the healing activity of the hydroalcoholic extract of *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo) in *Mus musculus* albino mice.

Methods: The experimental study method was carried out. The sample was collected in the department of Madre de Dios, province of Tambopata km 8 on the highway to Infierno; with seven groups in total and a sample of 42 mice *Mus musculus* var. *albinos* Balb/c/CNPB. The tensiometric method (Vaisberg) was applied, the healing test analysis was performed using data collection instruments with the SPSS 26 statistical program.

Results: The hydroalcoholic extract presented healing activity at concentrations of 5 % and 10 % similar to those of the positive control group (Bephanem) in contrast to the 2,5 %, 20 % and negative control groups which presented lower healing activity.

Conclusions: The secondary metabolites detected in the hydroalcoholic extract of the capirona bark were flavonoids, tannins and quinone compounds, which together were responsible for providing the healing activity. The wound-healing activity of the 5 % hydroalcoholic extract of capirona bark was similar to the reference brand standard or positive control (Bepanthen cream) in *Mus musculus albinos* mice.

Keywords: *Calycophyllum spruceanum*, flavonoids, tannins, healing activity.

I. INTRODUCCIÓN

Tanto las heridas agudas como las heridas crónicas constituyen un importante problema de salud pública lo cual impacta en la calidad de vida de los pacientes que las desarrollan e implican un notable gasto económico para el Sistema Nacional de Salud¹.

En el caso de Estados Unidos, se reporta que las heridas crónicas afectan a 6,5 millones de personas aproximadamente, lo que representa un gasto anual de 25 billones de dólares². En Europa, se estima una alta prevalencia de úlceras por presión llegando hasta un 22 %.

En Perú, se reportó que entre 11,4 y 16 % de pacientes hospitalizados desarrollaron úlceras por presión³. Por otro lado, en un estudio descriptivo realizado con registros electrónicos en 3 904 pacientes hospitalizados el 24,6 % (962) presentaron un alto riesgo de úlceras por presión al momento de la admisión hospitalaria⁴.

Perú reporta 1,109 plantas medicinales de las cuales 980 especies provienen de la Amazonía⁵. Los árboles amazónicos del género *Calycophyllum*, especialmente *Calycophyllum spruceanum*, es usado en forma tradicional desde la antigüedad⁶. En los tiempos modernos se ha ido estudiando y demostrando sus propiedades medicinales, cicatrizante entre muchas otras⁷.

Según la situación problemática planteada se formuló la siguiente pregunta:

- ¿Cuál es la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* (capirona del bajo) en ratones albinos *Mus Musculus*?

Calycophyllum spruceanum (capirona de bajo), es un árbol de 20 a 35 m de altura, de 50 cm a 1,20 m de diámetro, con un tallo recto, cilíndrico y regular. Su corteza es lisa, color verde, lustroso, y uniforme⁸. Sus hojas son opuestas y pequeñas con una longitud de 5 a 10 cm y ancho de 3 a 5 cm⁹.

Calycophyllum spruceanum, está distribuida por toda la selva del Perú, de Bolivia y Brasil, sin sobrepasar los 1200 msnm¹⁰. Se le encuentra en hábitat de alta pluviosidad, pero también en zonas con estaciones secas marcadas¹¹.

Los usos tradicionales de la especie vegetal que se conocen son: antidiabético, antioxidante, antiséptico, astringente, bactericida, cicatrizante, insecticida, etc¹². Presenta acción anti-Leishmania¹³. Reporta la presencia de iridoides y secoiridoides en su corteza. Los iridoides presentan una actividad baja contra *Trypanosoma cruzi*¹⁴.

Los Shipibo-Conibo de la comunidad nativa Nuevo Saposoa del departamento de Ucayali usan la capirona para el tratamiento de manchas, cortes en la piel como cicatrizante, descensos vaginales, en lavados vaginales y "sobrepardo"¹⁵.

El pueblo ashéninka de la comunidad Dulce Gloria, emplean tradicionalmente la capirona como cicatrizante¹⁶. Los nativos del río Apaporis (Colombia), toman un cocimiento de la corteza de *Calycophyllum obovatum* en las parasitosis¹⁷.

La piel se compone de tres capas (epidermis, dermis e hipodermis) con composición y funciones específicas¹⁸, considerada la primera barrera de protección del organismo¹⁹.

Dentro de sus funciones se encuentran: protectora, termoreguladora, síntesis de vitamina D, sensorial, vigilancia inmunológica, producción de melanina y reguladora del equilibrio hidro-electrolítico^{20,21}. La dermis tiene una capa superficial (papilar) y otra profunda (reticular)²², la hipodermis contiene tejido adiposo y terminaciones nerviosas²³.

Entre sus componentes tenemos:

Células de Langerhans que representan una barrera inmunológica²⁴, las células de Merkel que detectan estímulos sensoriales^{25,26}, la dermis papilar que contiene paquetes vasculonerviosos²⁷, y la dermis reticular que tiene vasos sanguíneos y tejido conjuntivo²⁸.

La cicatrización consta de 5 fases:

- Fase I: Hemostasia: Su propósito es detener el sangrado^{29,30}.
- Fase 2: Fase inflamatoria/ defensiva: En esta fase, los neutrófilos ingresan a la herida para la destrucción de los microorganismos^{31,32}.
- Fase 3: Fase de proliferación: Cuyo propósito es llenar y cubrir la lesión³³.
- Fase 4: Fase de maduración: En esta fase adquiere fuerza y flexibilidad lentamente, durando entre 21 días y dos años³⁴.
- Fase 5 - Remodelación o contracción: Es la etapa final, empieza al mismo tiempo que la fibroplasia y continúa por meses³⁵.

Las terapias tradicionales están basadas en compuestos de origen natural (extractos de plantas, miel y larvas) ³⁶.

Entre los antecedentes al desarrollo del trabajo de investigación se dispone de los siguientes:

Roca M, et al (2019), determinaron la actividad bactericida y fungicida de tres tipos de extractos de hoja y corteza de capirona (*Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex Schumann). Los resultados mostraron que los tres tipos de extractos (acuoso, etanólico, metanólico) de corteza y hojas del árbol de *Calycophyllum spruceanum* evidenciaron una fuerte actividad bactericida. El extracto metanólico de corteza mostró además poca actividad antifúngica ³⁷.

Olivera L, et al (2018), evaluaron el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico al 70 % de los frutos de *Morinda citrifolia* (Noni) a diferentes concentraciones en incisiones periodontales inducidas en ratas albinas de raza Holtzman. En conclusión, el extracto hidroalcohólico al 70 % a una concentración del 5 % mostró actividad cicatrizante y redujo las incisiones gingivales al séptimo día de tratamiento³⁸.

Garibay E, et al (2018), determinaron el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* (wito) en animales de experimentación. En el resultado de los tres niveles de dosis del extracto (100 mg/Kg, 300 mg/Kg y 500 mg/Kg) evaluados, el que mostró mejor porcentaje de eficacia en el efecto antiinflamatorio fue para el grupo de dosis 500 mg/Kg (29,4 %). Concluyendo, que el extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* (wito) tiene efecto antiinflamatorio en ratas³⁹.

Peixoto H, et al (2018), desarrollaron el artículo científico "*Calycophyllum spruceanum* (Benth.), el árbol de la juventud amazónica prolonga la longevidad y mejora la resistencia al estrés en *Caenorhabditis elegans*". Proporcionaron el primer paso hacia una evidencia basada en la ciencia de los efectos beneficiosos de *Calycophyllum spruceanum* en la promoción de la longevidad y en la modulación de los marcadores relacionados con la edad. Los resultados mostraron que el extracto de *Calycophyllum spruceanum* pudo mejorar la resistencia al estrés y extender la vida útil junto con la atenuación de los marcadores asociados con el envejecimiento en *Caenorhabditis elegans*⁴⁰.

Barros da Silva A, et al (2018), investigaron el artículo científico "*Calycophyllum spruceanum* (Benth.) mejora la inflamación aguda en ratones. Evaluaron in vivo las actividades antinociceptivas y antiinflamatorias del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum. El extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* mostró un efecto antinociceptivo, reduciendo el número de retorcimientos inducidos por ácido acético, también inhibió

el edema de la pata. Concluyendo, que el extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* muestra efectos analgésicos y antiinflamatorios en ratones sin causar una toxicidad aguda aparente⁴¹.

Santos A, et al (2016), Detallaron una investigación sobre el "Estudio de la botánica, etnofarmacología y la química de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum." Los resultados mostraron que la especie conocida como mulateiro es una Rubiaceae amazónica. Utilizada en etnomedicina en el tratamiento de enfermedades gástricas, dermatológicas, metabólicas, del aparato genitourinario y en la prevención del envejecimiento. En conclusión el mulateiro posee metabolitos como taninos, fenoles y secoiridoides con actividad anti trypanosoma. Es utilizada en diversas enfermedades, presentando actividad antioxidante y fotoprotectora⁴².

Este estudio avalará científicamente las propiedades medicinales de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo) para poder considerarla una especie promisorio medicinal, para el tratamiento de afecciones dérmicas y no solo como una especie maderable de la región de Madre de Dios.

Asimismo, el uso de plantas medicinales ha hecho posible el aislamiento y caracterización de principios activos con interés farmacológico, lo cual será sumamente provechoso para la población debido a su carácter natural y económico^{43, 44}.

El objetivo general del estudio fue evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo) en ratones albinos *Mus musculus*.

La hipótesis general del estudio fue: El extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo) presenta efecto cicatrizante en ratones albinos *Mus musculus*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Enfoque: Cuantitativo.

Experimental: Porque se manipula la variable independiente y se confirma su impacto en la variable dependiente⁴⁵.

Explicativo: Su propósito es encontrar causalidades en eventos y permite explicar los fenómenos y circunstancias.

Correlacional: Su finalidad es conocer la relación entre dos categorías o conceptos.

Longitudinal: Se realizó con el propósito de analizar los cambios que ocurren en diferentes momentos del estudio⁴⁵.

2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población animal estuvo conformada por 42 ratones *Mus musculus* Balb c var. Albinos de sexo masculino, aproximadamente de 45 días de edad; con un peso promedio de 20 – 40 g, obtenidos del bioterio de Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Productos Biológicos (INS) - Lima.

La población animal se dividió en 7 grupos, cada grupo estuvo conformado por 6 ratones.

La población vegetal estuvo constituida por 6 kilos de corteza de la especie *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajío) en el mes de Abril 2021, procedentes del kilómetro 8 carretera a Infierno, provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios a una altura de 205 m.s.n.m.

El muestreo fue de carácter intencional, no probabilístico.

La identificación de la muestra vegetal se realizó en la Universidad Amazónica de Madre de Dios por el taxonomista Hugo Dueñas Linares. (ANEXO C)

Las cortezas, se envolvieron en papel Kraft y se embolsó en una caja de cartón con su respectivo rótulo, enviándolo a la ciudad de Cusco al laboratorio de Tecnología e Ingeniería de Procesos Industriales, donde se procedió a eliminar las sustancias extrañas presentes en el material vegetal, luego de la separación de las impurezas se procedió a lavar la muestra vegetal con agua destilada, cortando la corteza en virutas de 0,5 - 1 cm.

Las virutas fueron puestas a secar en un horno a 40 °C. por 10 días. Una vez seca las virutas se procedió con la trituración y pulverización mediante el uso de un mortero.

El muestreo fue aleatorizado, considerando la zona de recolección.

La muestra vegetal estuvo constituida por 2 kg de corteza seca pulverizada de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo).

Luego con la muestra pulverizada se procedió a realizar el macerado utilizando 4 litros de alcohol etílico al 70 %, se colocó en un envase ámbar con tapa rosca limpio, seco y desengrasado, donde permaneció el macerado por 10 días y cada 12 horas se realizó agitación, a continuación se realizó la filtración utilizando papel Whatman Grado 1, el extracto se recibió en 03 fuentes de vidrio, a continuación se llevó al horno a 40 °C hasta obtener un peso constante, obteniéndose el extracto seco (melcocha).

2.3 VARIABLES DE INVESTIGACIÓN

En el siguiente estudio se presentará como variable principal nuevas oportunidades de tratamiento, es una variable cuantitativa y su escala de medición es longitudinal.

Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo).

Definición conceptual: La concentración del extracto es extraída por el etanol, que posee una composición química que le proporciona una acción farmacológica útil en la terapéutica.

Definición operacional: Extracto elaborado por principios activos que sintetizan los metabolitos secundarios.

Variable dependiente: Efecto cicatrizante en ratones albinos.

Definición conceptual: El diámetro de cicatrización es el proceso de reparación y sustitución de células lesionadas.

Definición operacional: La actividad cicatrizante se evaluó mediante el Método tensiométrico (Vaisberg) inducidos en lomo de ratones albinos.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica que se utilizó en el estudio es la observación, y el instrumento de recolección de datos fue mediante el uso de fichas en las que se recepción los resultados de la prueba de solubilidad, marcha fitoquímica y fichas de recolección de datos de la actividad cicatrizante en heridas incisas de ratones albinos según Alcedo C (2018)⁴⁶.

2.5 PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

2.5.1 Análisis previo del extracto hidroalcohólico

Se realizó en el laboratorio de Tecnología e Ingeniería de procesos Industriales en la ciudad de Cusco. Se hicieron las siguientes pruebas:

- a) Índice afrosimétrico:** Se colocó 1,00 gramo del extracto seco en un tubo de ensayo y se le agregó 6 ml de agua destilada, se agitó suavemente con el tubo cerrado por 1-2 minutos y se esperó durante 5 minutos.
- b) Determinación de pH:** Se colocó 0,5 gramos del extracto seco en un tubo de ensayo y se le agregó 5 mililitros de agua destilada, se

procedió a agitar hasta que se homogenizó. Este procedimiento se realizó con ayuda del pH metro modelo pH-920 con ATC, CHEMILABOR® debidamente calibrado. Se procedió a limpiar la punta del electrodo con agua destilada, para evitar errores en la lectura. Este procedimiento se llevó a cabo a temperatura ambiente.

c) Prueba de solubilidad: Se utilizó el extracto seco (melcocha), con la ayuda de una bagueta se tomó 0,3 g de la muestra seca, colocándola en cada tubo de ensayo, a los cuales se les agregó 2 ml de los siguientes solventes: etanol de 96 %, etanol de 70 %, agua destilada, acetona, benceno, cloroformo.

2.5.2 Marcha fitoquímica

Según el método de Olga Lock⁴⁷ se identifica los metabolitos a través de cambios de color y formación de precipitados denominado marcha fitoquímica.

Para la identificación de flavonoides se utilizan tres tipos de reacciones:

- Agregando 3 gotas de tricloruro férrico en un tubo de ensayo con 2 ml de agua destilada.
- Agregando 3 gotas de tricloruro de aluminio al 2 % más 2 ml de agua destilada y
- Agregando 5 gotas de acetato de plomo.

Para la identificación de alcaloides se utilizaron dos tipos de reacciones:

- Como reactivo se utilizó Dragendorff agregando 2 gotas ácido clorhídrico al 4 % con 2 ml de agua destilada.
- La reacción de Stas Otto agregando 3 gotas de ácido sulfúrico al 80 %, con 5 gotas de solución de dicromato de potasio.

Para la identificación de antraquinonas y naftoquinonas se usó Bontrager, con 2 ml de muestra y 2 ml de agua destilada, agregando tres gotas de hidróxido de sodio al 5 % con 2 gotas de bencina.

Para identificación de saponinas se utilizó el método de la espuma, con 2 ml de muestra y 10 ml de agua destilada en tubo cerrado se agita por unos dos minutos, se espera la presencia de espuma.

Para compuestos fenólicos se utilizó el reactivo Shinoda, diluido en 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado con dos pedacitos de cinta de magnesio metálico por 5 minutos.

2.5.3 Actividad cicatrizante método tensiométrico

Actividad cicatrizante: Vaisberg et al⁵².

Método: lesión inducida en lomo de ratón, se realizó en la veterinaria "Clinican".

a) Preparación de los extractos a ensayar

Se trabajó con 4 fioles en las cuales se agregó: 2,5 g, 5 g, 10 g, y 20 g del extracto seco a los cuales se les agregó etanol al 70 % c.s.p. 100 ml.

b) Análisis farmacológico

- Distribución de la muestra

Los animales utilizados para esta prueba farmacológica fueron un lote de 42 ratones albinos machos (*Mus musculus*), de 45 días de edad, con un peso entre 20 a 40 gramos, los cuales fueron distribuidos al azar en 7 grupos de 6 animales con peso similar⁴⁸.

- Ambientación

Luego de ser pesados, acondicionados e identificados mediante números en las orejas. Se los colocó en sus respectivas cajas de madera con mallas protectoras, con lapsos de fotoperiodos de 12

horas para la luz y 12 horas para la oscuridad y una etapa de adaptación de 7 días. Se les administró alimento balanceado y agua clorada en horario diurno 2 veces al día.

- Depilación

Terminados los días de aclimatación, se procedió a anestésiar a los ratones administrándoles una dosis de ketamina 70 mg/kg vía subcutánea en la región interescapular paralela al eje vertebral, previa desinfección con alcohol del área por depilar. Luego se procedió a depilar con agua tibia y crema de depilación⁴⁹.

- Incisión

Esta técnica se llevó a cabo de acuerdo al método propuesto por Gonzales-Quevedo⁵⁰. Se realizó una incisión de 1 cm de longitud, con una hoja de bisturí N° 21, esta incluyó piel y tejido celular subcutáneo. Pasados diez minutos del trauma se observó las fases de coagulación y hemostasia en cada espécimen, este procedimiento se ejecutó hasta completar todos los ratones del estudio⁵¹.

- Aplicación

En el área de la herida se aplicó un hisopo empapado con el extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo) cada 12 horas, a diferentes concentraciones (2.5 %, 5 %, 10 % y 20 %) en cada grupo experimental, excepto el grupo con el control positivo al cual se le administró Bepanthen y el grupo con el control negativo al cual no se le aplicará nada.

Asimismo se los clasificó en diferentes grupos:

Grupo I: Ratones tratados con extracto hidroalcohólico al 2,5 % de corteza de capirona de bajo.

Grupo II: Ratonos tratados con extracto hidroalcohólico al 5 % de corteza de capirona de bajo.

Grupo III: Ratonos tratados con extracto hidroalcohólico al 10 % de corteza de capirona de bajo.

Grupo IV: Ratonos tratados con extracto hidroalcohólico al 20 % de corteza de capirona de bajo.

Grupo V: Ratonos sin tratamiento (control negativo).

Grupo VI: Ratonos tratados con Bepanthen (control positivo).

Grupo VII: Ratonos con piel intacta (blanco).

Se observó y registró las diferentes etapas del proceso de cicatrización en cada grupo, como son: sangrado, cambio de color, agregación, degranulación, formación de costra, retracción de la costra, exfoliación de todo el perímetro de la costra y desprendimiento de la costra.

c) Actividad cicatrizante método tensiométrico:

La técnica operatoria se realizó de acuerdo con el método propuesto por Vaisberg et al ⁵², el equipo fue un dinamómetro el cual se fundamenta: "En la adición de la fuerza de tensión (medida en gramos), necesaria para abrir una herida de 1 cm. de longitud producidas en el lomo de ratón". Después de finalizar el tratamiento, los animales fueron sacrificados mediante sobredosis de anestesia e inmediatamente se procedió a medir la fuerza de tensión.

Con el dinamómetro que fue adaptado con dos hilos de Nylon N° 0, que se sujetaron en ambos lados de la herida, uno de ellos fue llevado a un punto fijo, mientras que el otro hilo se sujetó al extremo del dinamómetro buscando provocar una fuerza opuesta. Una vez realizada esta operación se aumentó progresivamente el peso en el dinamómetro, hasta provocar la reapertura de la herida.

d) Interpretación de los resultados

Midiendo la resistencia de la cicatriz con el dinamómetro, se calculó la fuerza tensión de la herida en gramos. Estos serán expresados como datos descriptivos de frecuencia. El grupo que presente un mayor promedio, presentará mejor efecto cicatrizante.

La eficacia de cicatrización, se calculó tomando como referencia los gramos necesarios para abrir la cicatriz tratada, entre los gramos necesarios para abrir la piel intacta, usando los datos obtenidos por el método fuerza de tensión, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia de cicatrización} = \frac{\text{Gramos necesarios para abrir la cicatriz tratada}}{\text{Gramos necesarios para abrir la piel intacta}} \times 100$$

2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Luego de la obtención de resultados de los análisis mencionados, se realizó las evaluaciones mediante estadística descriptiva. Para la prueba de Hipótesis se realizó una prueba ANOVA. Para las variables peso corporal y actividad cicatrizante, se analizó mediante el test de Tukey. Todas las pruebas fueron realizadas con una significancia de $p < 0,05$. Para el procesamiento de datos se utilizó el programa estadístico SPSS versión 26 y Microsoft Excel versión 16.

2.7. ASPECTOS ÉTICOS

En la presente investigación se siguieron las normas éticas de la declaración de Helsinki⁵³. La ley 30407⁵⁴. También se tomó en cuenta las recomendaciones éticas del Instituto Nacional de Salud⁵⁵.

III. RESULTADOS

3.1 De las pruebas del extracto hidroalcohólico

Tabla 1. Determinación del índice afrosimétrico

Índice afrosimétrico	Resultados
Prueba de la espuma (Saponinas)	+

Dónde: Ausencia (-) Leve (+) Moderado (++) Abundante (+++)

En la tabla 1, se muestra el resultado del índice afrosimétrico, donde se evidencia la leve presencia de espuma (saponinas).

Tabla 2. Determinación del pH del extracto hidroalcohólico desecado de la corteza de capirona de bajo

Determinación del pH	Temperatura (°C)	Resultados
	25	4,5

Dónde: ácido: <7 Neutro: 7 Básico: >7

En la tabla 2, se puede apreciar que el extracto hidroalcohólico desecado de la corteza de capirona de bajo, presentó un pH de 4.5, lo que quiere decir que el extracto es de naturaleza ácida.

Tabla 3. Prueba de solubilidad

SOLVENTES	RESULTADOS
Agua destilada	+++
Etanol 96 %	+
Etanol 70 %	+++
Acetona	-
Cloroformo	+
Benceno	-

Donde: (-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble

En la tabla 3, se muestran los resultados de la prueba de solubilidad, presentando como mejores solventes polares etanol al 70 % y agua destilada.

3.2 De la marcha fitoquímica

Tabla 4. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico desecado de capirona de bajo

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	ENSAYO	REACCIÓN
Flavonoides Taninos Compuestos fenólicos	Reactivo FeCl ₃ 2%	+++
	Reactivo AlCl ₃	++
	Reactivo Acetato de Plomo	+
Alcaloides	Reactivo . Dragendorff	++
	Reactivo Otto	++
Antraquinonas Naftoquinonas Compuestos quinónicos	Reactivo Borntrager	+++

Dónde: (+++) Abundante (++) Moderado (+) Leve (-) Ausencia

En la tabla 4, se puede apreciar la marcha fitoquímica que se realizó con el extracto hidroalcohólico de la corteza de capirona de bajo donde se determinó la presencia importante de flavonoides, taninos, compuestos quinónicos, antraquinonas, y en menor presencia se encontró alcaloides.

3.3 Actividad cicatrizante de los diferentes grupos con sus respectivos tratamientos

Tabla 5. Actividad cicatrizante del grupo tratado con extracto hidroalcohólico de capirona al 2,5 %

N	CONCENTRACIÓN	LONGITUD DE LA HERIDA (mm)				
		DIA 0	DIA 1	DIA 5	DIA 10	DIA 15
1	Extracto hidroalcohólico de capirona al 2,5 %	10,00	9,50	7,00	4,00	3,00
2		10,00	9,00	8,50	3,50	1,00
3		10,00	9,50	9,00	3,50	2,00
4		10,00	9,50	9,00	2,50	0,00
5		10,00	9,50	8,50	4,00	2,00
6		10,00	9,50	9,00	3,00	1,50
PROMEDIO		10,00	9,42 +/- DE 0,20	8,50 +/- DE 0,77	3,42 +/- DE 0,58	1,58 +/- DE 1,02

Tabla 6. Actividad cicatrizante del grupo tratado con extracto hidroalcohólico de capirona al 5 %

N	CONCENTRACIÓN	LONGITUD DE LA HERIDA (mm)				
		DIA 0	DIA 1	DIA 5	DIA 10	DIA 15
1	Extracto hidroalcohólico de capirona al 5 %	10,00	9,00	8,50	4,00	2,50
2		10,00	8,50	7,50	3,50	0,00
3		10,00	9,00	7,50	3,50	0,00
4		10,00	8,50	7,00	3,00	3,00
5		10,00	9,50	7,50	3,50	0,00
6		10,00	9,00	8,00	4,00	0,00
PROMEDIO		10,00	8,92 +/- DE 0,38	7,67 +/- DE 0,52	3,58 +/- DE 0,38	0,92 +/- DE 1,43

Tabla 7. Actividad cicatrizante del grupo tratado con extracto hidroalcohólico de capirona al 10 %

N	CONCENTRACIÓN	LONGITUD DE LA HERIDA (mm)				
		DIA 0	DIA 1	DIA 5	DIA 10	DIA 15
1	Extracto hidroalcohólico de capirona al 10 %	10,00	9,50	8,00	3,00	1,00
2		10,00	9,00	8,00	3,00	0,00
3		10,00	8,00	7,50	4,00	0,00
4		10,00	8,50	7,00	6,00	5,00
5		10,00	9,00	8,00	3,00	0,00
6		10,00	8,00	7,50	3,50	0,00
PROMEDIO		10,00	8,67 +/- DE 0,61	7,67 +/- DE 0,41	3,75 +/- DE 1,17	1,00 +/- DE 2

Tabla 8. Actividad cicatrizante del grupo tratado con extracto hidroalcohólico de capirona al 20 %

N	CONCENTRACIÓN	LONGITUD DE LA HERIDA (mm)				
		DIA 0	DIA 1	DIA 5	DIA 10	DIA 15
1	Extracto hidroalcohólico de capirona al 20 %	10,00	9,00	8,50	3,00	4,00
2		10,00	9,00	8,50	4,00	0,00
3		10,00	9,00	8,50	3,50	2,00
4		10,00	9,00	8,00	2,50	2,00
5		10,00	8,50	7,50	3,00	1,00
6		10,00	9,00	8,50	4,00	2,00
PROMEDIO		10,00	8,92 +/- DE 0,20	8,25 +/- DE 0,42	3,33 +/- DE 0,61	1,83 +/- DE 1,33

Tabla 9. Actividad cicatrizante del grupo tratado con Bepanthen (control positivo)

N	CONCENTRACIÓN	LONGITUD DE LA HERIDA (mm)				
		DIA 0	DIA 1	DIA 5	DIA 10	DIA 15
1	CONTROL POSITIVO	10,00	9,00	8,50	4,00	3,00
2		10,00	9,00	8,50	3,00	0,00
3		10,00	9,00	8,50	4,00	2,00
4		10,00	9,00	8,00	3,50	1,00
5		10,00	9,00	8,00	3,50	0,00
6		10,00	9,50	9,00	4,50	2,50
PROMEDIO		10,00	9,08 +/- DE 0,20	8,42 +/- DE 0,38	4,25 +/- DE 0,41	1,42 +/- DE 1,28

Tabla 10. Actividad cicatrizante del grupo sin tratamiento (control negativo)

N	CONCENTRACIÓN	LONGITUD DE LA HERIDA (mm)				
		DIA 0	DIA 1	DIA 5	DIA 10	DIA 15
1	CONTROL NEGATIVO	10,00	9,50	9,00	3,50	0,00
2		10,00	9,50	9,00	6,00	4,00
3		10,00	9,00	8,50	7,00	4,00
4		10,00	9,00	8,50	5,00	2,00
5		10,00	9,50	8,50	2,00	1,00
6		10,00	9,50	8,50	5,50	2,00
PROMEDIO		10,00	9,33 +/- DE 0,26	8,67 +/- DE 0,26	3,50 +/- DE 1,81	2,17 +/- DE 1,60

Tabla 11. Comparación de la cicatrización total de los diferentes grupos de tratamiento

N° de ratones	E.H.C. 2,5%	E.H.C. 5%	E.H.C. 10%	E.H.C. 20%	Bepanthen(Control positivo)	Sin tratamiento (Control negativo)
1	3,00	2,50	1,00	4,00	3,00	0,00
2	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00
3	2,00	0,00	0,00	2,00	2,00	4,00
4	0,00	3,00	5,00	2,00	1,00	2,00
5	2,00	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00
6	1,50	0,00	0,00	2,00	2,50	2,00
Promedio	1,58 +/- DE 1,02	0,92 +/- DE 1,43	1,00 +/- DE 2	1,83 +/- DE 1,33	1,42 +/- DE 1,28	2,17 +/- DE 1,60
Mediana	1,75	0,00	0,50	2,00	1,50	2,00

En la tabla 11. Se puede observar los resultados del proceso de cicatrización de las lesiones inducidas en ratones al quinceavo día, resultando que el extracto hidroalcohólico de capirona al 5 % (0,92 +/- DE 1,43) favorece mucho mejor la cicatrización seguida de capirona al 10 % (1,00 +/- DE 2).

Tabla 12. Ficha de registro del peso en gramos de los ratones

GRUPOS:	R1		R2		R3		R4		R5		R6		PESO TOTAL DE RATONES (gramos)	PESO TOTAL ARENA (gramos)
	P.R.	P.A.	P.R.	P.A.	P.R.	P.A.	P.R.	P.A.	P.R.	P.A.	P.R.	P.A.		
BLANCO	40	195	40	245	33	250	40	240	35	225	33	230	221	1385
CONTROL POSITIVO	40	170	40	225	33	214	40	180	35	214	40	223	228	1226
CONTROL NEGATIVO	40	80	40	130	40	150	40	180	38	130	36	140	234	810
E.H.C. 2.5 %	39	195	37	180	37	225	35	195	36	194	40	206	224	1195
E.H.C. 5 %	30	275	40	230	30	235	40	180	35	225	39	235	214	1380
E.H.C. 10 %	20	205	44	280	36	200	37	215	38	219	39	231	214	1350
E.H.C. 20 %	20	120	37	145	40	155	37	110	44	160	25	151	203	841

Tabla 13. Estadística descriptiva

	BLANCO	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO	E.H.C 2,5 %	E.H.C 5 %	E.H.C 10%	E.H.C 20 %
Media	230,8333	204,3333	135	199,1666	230	225	140,1666
Error típico	8,105210	9,545214	13,35415	6,172069	12,38278	11,86310	8,308295
Mediana	235	214	135	195	232,5	217	148
Moda	amodal	214	130	195	235	amodal	amodal
Desviación estándar	19,85363	23,38090	32,71085	15,118421	30,33150	29,05856	20,35108
Varianza	394,16666	546,6666	1070	228,5666	920	844,4	414,16666
Rango	55	55	100	45	95	80	50
Mínimo	195	170	80	180	180	200	110
Máximo	250	225	180	225	275	280	116
Suma	1385	1226	810	1195	1380	1350	841
Cuenta	6	6	6	6	6	6	6
Confianza (95 %)	20,83510	24,536753	34,3279	15,86581	31,83095	30,4950	21,357154
Eficacia de cicatrización	100 %	88,52 %	58,48 %	86,28 %	99,64 %	97,47 %	60,72 %

Estadística descriptiva de los datos obtenidos al evaluar el efecto cicatrizante del extracto de la corteza de capirona sobre heridas superficiales en ratones *Mus musculus* var. albinus.

Interpretación: El resultado de las mediciones de la cicatrización se realizó por peso en gramos con dinamómetro tubular Spring scale. Los mismos fueron expresados como media, mediana, moda, varianza de la muestra, desviación estándar, rango, mínimo y máximo, con una confianza del 95 %. Se evidencian los

valores reducidos para la media en el control negativo (135), seguido del extracto hidroalcohólico de capirona al 20 % (140,17).

La piel tratada con extracto hidroalcohólico de capirona al 5 %, muestra un valor superior a los anteriores señalados (230), dicho valor es menor y semejante al de la piel intacta (230,83). Inmediatamente después se muestra el extracto hidroalcohólico de capirona al 10 % (225).

También se determinó la eficacia de cicatrización, presentando un 99,64 % de eficacia para el extracto de capirona al 5 %, seguido de capirona al 10 % (97,47 %).

Decisión: De los resultados obtenidos se concluye que el empleo de capirona al 5 % muestra el valor de media más alto y con mejor eficacia de cicatrización.

Tabla 14. Prueba de Normalidad

Pruebas de normalidad						
TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Blanco	0,218	6	0,200*	0,889	6	0,314
Control positivo	0,327	6	0,044	0,823	6	0,094
Control negativo	0,273	6	0,185	0,937	6	0,633
Extracto de capirona 2,5 %	0,275	6	0,174	0,913	6	0,457
Extracto de capirona 5 %	0,268	6	0,200*	0,900	6	0,372
Extracto de capirona 10 %	0,252	6	0,200*	0,827	6	0,101
Extracto de capirona 20 %	0,261	6	0,200*	0,872	6	0,236
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.						
a. Corrección de significación de Lilliefors						

Para saber si los datos de los grupos en estudio siguen una distribución normal, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, dado que la población es menor a 50 individuos.

Dónde:

H0: La distribución del tiempo de cicatrización de los grupos en estudio es normal.

H1: La distribución del tiempo de cicatrización de los grupos en estudio no es normal.

Decisión: Si $p > 0,05$; se acepta la H0 y se rechaza H1. Si $p < 0,05$; se rechaza la H0, y se aprueba H1.

Resultado: Tenemos que la significancia de los grupos en estudio son: 0,457; 0,372; 0,101 y 0,236, correspondientes a los extractos hidroalcohólicos de capirona al 2,5 %, 5 %, 10 % y 20 % respectivamente; siendo estos mayores que 0.05; por lo que, aceptamos la hipótesis nula. Dado que aceptamos H0, podemos decir que la distribución del tiempo de cicatrización de los grupos en estudio es normal.

Tabla 15. Análisis de varianza (ANOVA)

ANÁLISIS DE LA VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F calculada	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	60720,9524	6	10120,1587	16,0347772	9,1324E-09	2,37178119
Dentro de los grupos	22089,8333	35	631,138095			
Total	82810,7857	41				

Contraste de hipótesis:

H1 = Existe diferencia entre los grupos experimentales de la prueba tensiométrica.

H0= No existe diferencia entre los grupos experimentales de la prueba tensiométrica.

Decisión:

Si $p < 0,05$; se rechaza H_0 , y se aprueba H_1 . Si $p > 0,05$; se acepta H_0 .

Resultado:

Con el análisis de varianza se lograron comparar los resultados obtenidos de la prueba tensiométrica de los seis grupos experimentales, tomando como variable cuantitativa los gramos de arena (dinamómetro).

Para realizar el análisis ANOVA de un factor, primero se plantearon las hipótesis nula y alternativa, luego se estableció el nivel de significación del 0,05 y seguidamente se empleó la distribución de muestreo F. Los resultados se resumen en la Tabla N°15 donde el valor F calculado fue de 16,03 siendo mayor que la F crítica de 2,37, en cuanto a la significación el valor de P fue de $9,1324 \times 10^{-9}$ ($P < 0,05$), por todo esto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, que señala que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales.

Tabla 16. Diferencia honestamente significativa de Tukey

Comparaciones múltiples						
HSD Tukey						
(I) Tratamiento		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95 %	
					Límite inferior	Límite superior
C. positivo	C. negativo	69,33333*	14,95140	,001	23,8572	1114,8094
	E.H.C. al 2,5 %	5,16667	14,95140	,999	-40,3094	50,6428
	E.H.C. al 5 %	-25,66667	14,95140	,532	-71,1428	19,8094
	E.H.C. al 10 %	-20,66667	14,95140	,737	-66,1428	24,8094
	E.H.C. al 20 %	64,16667*	14,95140	,002	18,6906	109,6428
C. negativo	C. positivo	-69,33333*	14,95140	,001	-114,809436	-23,8572
	E.H.C. al 2,5 %	-64,16667*	14,95140	,002	-109,6428	-18,6906
	E.H.C. al 5 %	-95,00000*	14,95140	,000	-140,4761	-49,5239
	E.H.C. al 10 %	-90,00000*	14,95140	,000	-135,4761	-44,5239
	E.H.C. al 20 %	-5,16667	14,95140	,999	-50,6428	40,3094
E.H.C. al 2,5 %	C. positivo	-5,16667	14,95140	,999	-50,6428	40,3094
	C. negativo	64,16667*	14,95140	,002	18,6906	109,6428
	E.H.C. al 5 %	-30,83333	14,95140	,333	-76,3094	14,6428
	E.H.C. al 10 %	-25,83333	14,95140	,525	-71,3094	19,6428
	E.H.C. al 20 %	59,00000*	14,95140	,005	13,5239	104,4761
E.H.C. al 5 %	C. positivo	25,66667	14,95140	,532	-19,8094	71,1428
	C. negativo	95,00000*	14,95140	,000	49,5239	140,4761
	E.H.C. al 2,5 %	30,83333	14,95140	,333	-14,6428	76,3094
	E.H.C. al 10 %	5,00000	14,95140	,999	-40,4761	50,4761
	E.H.C. al 20 %	89,83333*	14,95140	,000	44,3572	135,3094
E.H.C. al 10 %	C. positivo	20,66667	14,95140	,737	-24,8094	66,1428
	C. negativo	90,00000*	14,95140	,000	44,5239	135,4761
	E.H.C. al 2,5 %	25,83333	14,95140	,525	-19,6428	71,3094
	E.H.C. al 5 %	-5,00000	14,95140	,999	-50,4761	40,4761
	E.H.C. al 20 %	84,83333*	14,95140	,000	39,3572	130,3094
E.H.C. al 20 %	C. positivo	-64,16667*	14,95140	,002	-109,6428	-18,6906
	C. negativo	5,16667	14,95140	,999	-40,3094	50,6428
	E.H.C. al 2,5 %	-59,00000*	14,95140	,005	-104,4761	-13,5239
	E.H.C. al 5 %	-89,83333*	14,95140	,000	-135,3094	-44,3572
	E.H.C. al 10 %	-84,83333*	14,95140	,000	-130,3094	-39,3572

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Decisión:

Si $p\text{-value} < 0,05$; si hay diferencia significativa entre los grupos de comparación.

Si $p\text{-value} > 0,05$; no hay diferencia significativa entre los grupos de comparación.

Resultados:

En la Cuadro N° 16, se presentan los resultados de la prueba HSD de Tukey, evaluando la diferencia entre dos grupos, obteniendo que:

- El control negativo presenta diferencia significativa con el control positivo, con el extracto hidroalcohólico de capirona al 2,5 %, 5 % y 10 %
- El extracto hidroalcohólico de capirona al 20 % presenta diferencia significativa con el control positivo, con el extracto hidroalcohólico de capirona al 2,5%, 5 % y 10 %
- El grupo control positivo no presenta diferencia significativa con el extracto hidroalcohólico de capirona al 2,5 %, 5 % y 10 %
- El control negativo no presenta diferencia significativa con el extracto hidroalcohólico de capirona al 20 %
- El extracto hidroalcohólico de capirona al 2,5 % no presenta diferencia significativa con el extracto hidroalcohólico de capirona al 5 % y 10 %
- El extracto hidroalcohólico de capirona al 5 % no presenta diferencia significativa con el extracto hidroalcohólico de capirona al 10 %.

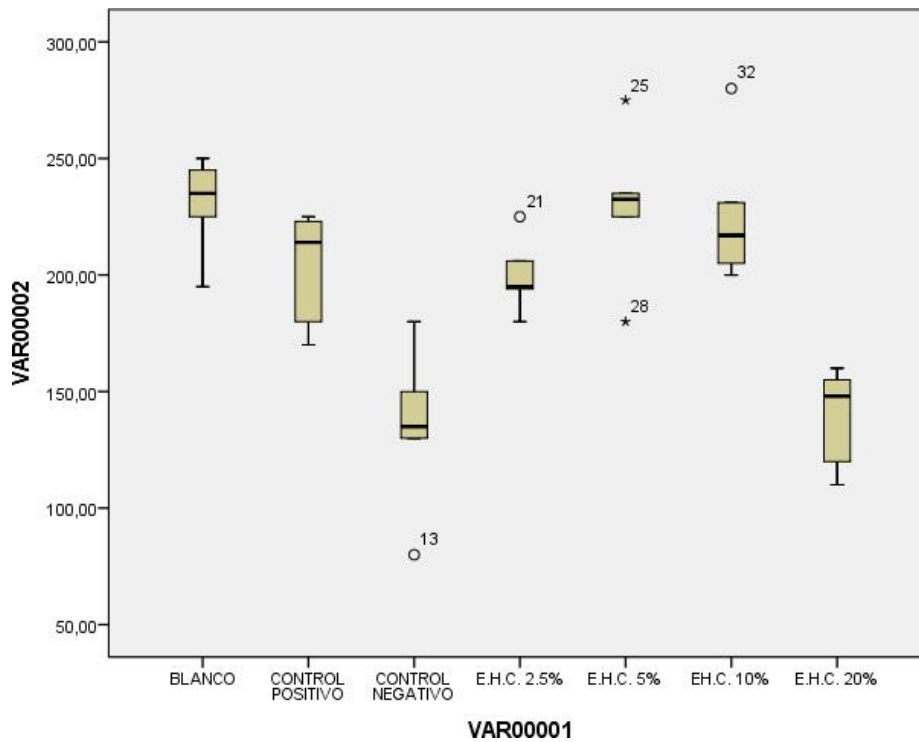
Tabla 17. Subconjuntos homogéneos

HSD Tukey			
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
Control negativo	6	135,0000	
Extracto de capirona al 20 %	6	140,1667	
Extracto de capirona al 2,5 %	6		199,1667
Control positivo	6		204,3333
Extracto de capirona al 10 %	6		225,0000
Extracto de capirona al 5 %	6		230,0000
Sig.		,999	,333
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.			

Interpretación: El subconjunto 2 formado por el extracto hidroalcohólico de capirona al 2,5 %, 5 %, 10 % y control positivo son homogéneos. De los cuales los que presentan un valor más elevado que el resto de grupos son el extracto de capirona al 5 % y 10 %. Además se puede evidenciar que los grupos que presentan un valor más bajo son los pertenecientes al subconjunto 1.

Con un nivel de significación del 0.05, según los subconjuntos homogéneos de Tukey podemos afirmar que el extracto de capirona al 5 %, tiene mejor efecto cicatrizante.

Gráfico N°1. Cajas y Bigotes de los grupos en tratamiento



En el gráfico N° 1 se observa las diferencias que existen entre los diferentes grupos de tratamiento. Podemos distinguir que la concentración de capirona al 5 % y 10 % son similares en efectividad al control positivo (Bepanthen).

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión de resultados

La cicatrización involucra una serie de pasos que la hacen compleja, con la presencia de elementos celulares que elaboran proteínas, las cuales intervienen en la inflamación y reparación del tejido, durante este proceso el cuerpo trata de reparar parte del tejido lesionado con uno nuevo, imitando la estructura y funcionalidad original que no son regeneradas⁵⁶.

La presente investigación describe actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de la corteza de capirona, sobre lesiones en ratones *Mus musculus* Balb/c/CNPB, a diferentes concentraciones 2,5 %, 5 %, 10 % y 20 % sobre heridas inducidas en comparación con crema comercial (Bepanthen).

En la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de capirona la reacción de precipitación y coloración fueron positivas para flavonoides, taninos y compuestos quinónicos probablemente antraquinonas, según se demuestra en la tabla N° 4. Los resultados de este estudio fitoquímico preliminar son concordantes con los metabolitos secundarios reportados por Santamaría E, (2013)⁵⁷, donde se comprueba la relación de la cicatrización con la sinergia entre taninos y flavonoides. Además, según Mendoza N, et. al (2019)⁵⁸, los taninos poseen capacidad astringente, lo cual aumenta el número de enlaces cruzados entre las fibras de colágeno. Evidenciando que los taninos ayudan a la vasoconstricción, al reducir la permeabilidad vascular y producir una acción antiinflamatoria. Del mismo modo, se sabe que poseen efecto antimicrobiano y estimulan el crecimiento de la epidermis, ayudando a la reepitelización. Por su parte Prado I, (2015)⁵⁹, determina que los flavonoides poseen un efecto cicatrizante significativamente mayor que el estándar, en su estudio con el "Dermaclin".

Se sabe además que los taninos realizan la inhibición de los radicales libres y de las especies reactivas oxigenadas, lo cual facilita el cierre del diámetro de la herida, ampliando la génesis de nuevos capilares sanguíneos (angiogénesis)

y la aparición de fibroblastos. Por otro lado, a pesar de que las saponinas, poseen propiedades antioxidantes y antimicrobianas; probablemente también sean las responsables de la disminución del cierre de la herida, aumentando la tasa de reepitelización⁶⁰ ; en este trabajo se evidencia la presencia de estas en mínima concentración. Por tal motivo no podríamos atribuir los efectos previamente citados a la presencia de saponinas.

En la tabla N° 11 se realiza la comparación de la cicatrización total de los diferentes grupos de tratamiento. Se obtuvieron resultados con acción favorable para la concentración del extracto hidroalcohólico de capirona al 5 %, seguida de capirona al 10 %; frente al extracto hidroalcohólico de capirona al 20 % y control negativo, cuyos resultados tuvieron una media mayor con poco cicatrización en relación a los primeros. Esto se corrobora con los resultados de la evaluación clínica, donde se evidencia el cierre total de la herida a los trece días para el extracto hidroalcohólico de capirona al 5 %, mostrando además una diferencia mínima con el extracto hidroalcohólico capirona al 10 %.

En la tabla N° 13 del análisis descriptivo, el grupo con una mayor media la obtuvo el extracto hidroalcohólico de capirona al 5 % (230), seguido del extracto al 10 % (225), comparado con el extracto hidroalcohólico de capirona al 20 % (140.17) y control negativo (135). Donde se necesitó una mayor fuerza de tensión para los dos primeros grupos, en la prueba tensiométrica. A diferencia de los otros dos grupos donde la ruptura de la herida se presentó con mayor facilidad.

En referencia a la actividad cicatrizante, el extracto de capirona al 5 % mostró una mayor eficacia (99,64 %) con un tiempo de cicatrización más corto, frente a los demás tratamientos; siendo el de menor eficacia el control negativo con un 58,48 %.

Las comparaciones múltiples con HSD de Tukey (tabla N° 16), nos confirma la diferencia estadística ($p < 0,05$) del extracto hidroalcohólico de capirona al 20 % y control negativo, cuya efectividad es menor, frente a los demás grupos. El

control positivo tiene un mejor efecto cicatrizante que el extracto de capirona al 2,5 %, sin ser este estadísticamente significativo. Continuando con el extracto de capirona al 5 % y 10 %, presentan un mejor efecto cicatrizante que el resto de grupos, sin ser estadísticamente relevante. Siendo el extracto de capirona al 5 % el que obtuvo el mejor resultado.

Con respecto a la concentración, se corresponde a lo encontrado por Juro S, et al (2010) ⁶¹, determinando que la concentración mínima efectiva cicatrizante del Nogal es del 5 %, y encontrando una relación entre concentración-cicatrización dentro del rango 2,5 % al 30 % y una relación formulación-cicatrización, siendo la presentación en emulsión O/A (aceite en agua) e hidrogel, los que tuvieron mayor resistencia a la tensión. Mogrovejo A. (2014) ⁶² también da un enfoque cuantitativo, encontrando que el gel de "Caléndula" al 10 % y el preparado comercial muestran la misma eficacia en el proceso de cicatrización.

Con respecto al efecto cicatrizante, posiblemente se deba a que en la corteza de la capirona se encuentran en su mayoría flavonoides, taninos y antraquinonas. Según Harborne J. (1999)⁶³, los taninos "condensados" son importantes porque ayudan en la cicatrización de heridas y quemaduras, mientras que los taninos "hidrolizables" han demostrado tener propiedades antivirales y antitumorales.

Finalmente se concluye que los extractos hidroalcohólicos de capirona al 5 % y 10 % presentan actividad cicatrizante mejor que el estándar de referencia de marca comercial. De los cuales destaca el extracto al 5 %, y con una efectividad algo menor el extracto al 10 %. En el caso del extracto hidroalcohólico de capirona al 20 % su actividad cicatrizante es menor y similar al control negativo.

4.2 Conclusiones

Los estudios realizados en el presente trabajo nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- De los metabolitos activos encontrados en el extracto hidroalcohólico de la corteza de capirona con posible actividad cicatrizante, se evidenciaron flavonoides, taninos y compuestos quinónicos.
- Se logró evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de capirona, encontrando un mejor resultado con una concentración al 5 %.
- La actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de la corteza de capirona al 5 % fue similar al estándar de referencia (crema Bepanthen) en ratones albinos *Mus musculus*.

4.3 Recomendaciones

- Se sugiere continuar con las investigaciones sobre el efecto cicatrizante de la corteza de capirona, mediante una forma farmacéutica adecuada; así como también de las otras partes de la planta (hojas, raíces, etc.).
- Complementar estudios con pruebas toxicológicas del extracto hidroalcohólico de la corteza de capirona para evaluar posibles efectos adversos a largo plazo.
- Realizar estudios de la capirona con otras especies vegetales que contengan la misma actividad cicatrizante.
- Comparar el extracto hidroalcohólico de la corteza de capirona con otros cicatrizantes comerciales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lorenzo-Hernández M, Hernández-Cano R, Soria-Suárez M. Heridas crónicas atendidas en un servicio de urgencias. *Enferm. glob.* 2014. [acceso: 16/05/2021]; 13 (35): 32-40. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412014000300002
2. Vela-Anaya G, Stegensek-Mejía E, Leija-Hernández C. Características epidemiológicas y costos de la atención de las heridas en unidades médicas de la Secretaría de Salud. *Rev. Enferm Inst Mex Seguro Soc.* 2018. [acceso: 16/05/2021]. 26(2): 105-114. Disponible en: http://revistaenfermeria.imss.gob.mx/editorial/index.php/revista_enfermeria/article/view/318
3. Chacón-Mejía J, Del Carpio-Alosilla A. Indicadores clínico-epidemiológicos asociados a úlceras por presión en un hospital de Lima. *Rev. Fac Med Hum.* 2019. [acceso: 16/05/2021]; 19(2): 66-74. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2308-05312019000200007&script=sci_arttext
4. Lama J, Rodríguez R. Úlceras por presión en el paciente hospitalizado. *Rev. Med Hered.* 2021.[acceso: 16/05/2021]; 32(1). 59-60. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2021000100059&lang=pt
5. Corrales-Portal F. Elaboramos un botiquín con plantas medicinales tradicionales. [Tesis para optar al Título de Licenciada en Educación Primaria]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2019.
6. Rengifo-Salgado E, Ríos-Torres S, Fachín-Malaverri L, Vargas-Arana G. Saberes ancestrales sobre el uso de flora y fauna en la comunidad indígena Tikuna de Cushillo Cocha, zona fronteriza Perú-Colombia-Brasil. *Rev. Peruana Biolog.* 2017. [acceso: 16/05/2021]; 24(1): 067 - 078. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v24n1/a08v24n1.pdf>.

7. Vilchez-Hualparuca N. Efecto de la fertilización en el crecimiento de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook F. en plantación, en el Centro de Investigación y Producción Tulumayo - Leoncio Prado. [Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniería Forestal y Ambiental]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú; 2019.
8. Ficha estándar de familia del catálogo de bienes, servicios y obras del MEF. Ficha estándar n° 85 familia 20720009 madera capirona. Lima: Ministerio de Economía y Finanzas; 2016. [acceso: 17/05/2021]. Disponible en:

https://www.mef.gob.pe/contenidos/doc_siga/catalogo/ctlogo_familias_madera_capirona.pdf
9. Fichas técnicas para plantaciones con especies nativas en zonas de selva baja. Lima. Ministerio de Agricultura y Riego; 2019. [acceso: 17/05/2021]. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/334519674_Fichas_tecnicas_para_plantaciones_con_especies_nativas_en_zona_de_Selva_Baja
10. Abanto-Rodríguez C, García-Soria D, Guerra-Árevalo W, Murga-Orrillo H, Saldaña-Ríos G, Vázquez-Reátegui D, et al. Sustratos orgánicos en la producción de plantas de *Calycophyllum spruceanum* (Benth.). *Scientia Agropecuaria*. 2016. [acceso: 17/05/2021]; 7 (3): 341-347. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172016000300007#:~:text=Los%20sustratos%20org%C3%A1nicos%20%5BTierra%20aluvial,capirona%20aptas%20para%20campo%20definitivo
11. Comportamiento fenológico preliminar de capirona en la provincia de San Martín, región San Martín. Perú: Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA. Estación Experimental Agraria El Porvenir; 2016. [acceso: 17/05/2021]. Disponible en:

<https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/inia/213/1/HD-2-2016-Capirona.pdf>
12. Vásquez-Nautino M. USO DE ARBOLES MADERABLES TORNILLO (*Cedrelinga catenaeformis*), BOLAINA (*Guazuma crinita*) y CAPIRONA

- (*Callycophyllum spruceanum*) COMO COMPONENTES DE UN SISTEMA AGROSILVOPASTORIL. [Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Zootecnista]. Yurimaguas: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2014.
13. Castillo-Pareja D, Sistema de evaluación biológico para la búsqueda de nuevos compuestos con actividad antileishmania. [Tesis para optar al Grado de Maestro en Bioquímica y Biología Molecular]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2018.
 14. Santos A, Ribeiro-Oliveira J, Carvalho C. Sobre una botánica, una Etnofarmacología y una química de *Callycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum. Rev. Bras Plantas Med. 2016 [acceso: 18/05/2021]; 18 (1): 383-389. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722016000500383&lng=en.
 15. Medina-Larico R. Etnobotánica cuantitativa de las plantas medicinales en la comunidad nativa Nuevo Saposoa, provincia Coronel Portillo, Ucayali-Perú. [Tesis para optar al Título Profesional de Bióloga]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín; 2018.
 16. Cáceres-Lima D. Aprovechamiento y uso tradicional de los recursos vegetales con enfoque de género en la Comunidad Nativa Dulce Gloria, Distrito de Yurúa, Provincia de Atalaya, Región Ucayali, 2014. [Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Ambiental]. Pucallpa: Universidad Nacional de Ucayali; 2015.
 17. Vega M. Etnobotánica de la Amazonía Peruana. 1ed. Quito-Ecuador: Ediciones Abya-Yala. 2001.
 18. Buendía-Eisman A, Mazuecos-Blanca J, Camacho-Martínez F. Anatomía y fisiología de la piel. Manual de dermatología. Grupo Aula Médica SL. Dialnet. 2018. [acceso: 19/05/2021]; 1: 2-27. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7351647>
 19. Uzcátegui-Díaz M, Gallardo L. Proteínas dérmicas: Colágeno y fibras elásticas. Dermatol Venez. 2019. [acceso: 19/05/2021]; 57(2): 7-15. Disponible en: <http://revista.svderma.org/index.php/ojs/article/view/1442>

20. Vieira-Vender A. Dermatología. Síntesis med uchile cl. 2018. [acceso: 19/05/2021]; Disponible en:
<https://sintesis.med.uchile.cl/index.php/en/respecialidades/r-dermatologia/103-revision/r-dermatologia/2459-estructura-y-funcion-de-la-piel>
21. Cruz-Mamani X. Determinación de la acción in vitro del extracto metanólico de cedrón (*lippia citriodora*) sobre células de melanoma inhibiendo la melanogénesis y sobre la actividad in vitro de la enzima tirosinasa sobre el sustrato l-tirosina. [Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniería Biotecnología]. Arequipa: Universidad Católica Santa María; 2017.
22. Iribar-Lopez H, Caracterización de las células de Schwann cutáneas: análisis de su origen embrionario e implicación en el desarrollo de neurofibromas dérmicos. [Tesis para optar el grado de Doctor]. España: Universidad del País Vasco; 2018.
23. Alvarado-Bonilla H. Estudio biofarmacéutico de triterpenos pentacíclicos antiinflamatorios vehiculizados en sistemas nanoestructurados para aplicación tópica. [Tesis para optar al título de Doctor]. España: Universidad de Barcelona; 2015.
24. Pacheco-Pérez A. Factores de riesgo asociados con la mortalidad de los pacientes con histiocitosis de células de Langerhans, en las edades desde el nacimiento hasta los 12 años, diagnosticados en el hospital Nacional de niños Benjamín Bloom, entre el período comprendido entre julio de 2002 y julio de 2012. [Tesis para optar al Título Profesional de Especialista en Pediatría]. San Salvador: Universidad De El Salvador; 2015.
25. Vega J, Suazo-Galdames I. El tacto. Tocar y sentir. 1 ed. Santiago de Chile: Editorial Ril Editores; 2021.
26. Vela A. Caracterización histológica, histoquímicas e inmunohistoquímica de la piel palmoplantar humana. [Tesis para optar al Título Doctoral en Biomedicina]. Granada: Universidad de Granada; 2018.
27. Mancilla M. Cosmetología y patologías de la piel. 1ed. Colombia: Fondo editorial Areandino; 2017.

28. Belmar-Ruiz M. Estudio del Efecto de Polifenoles Vegetales sobre un Modelo de Fotoenvejecimiento en Ratones SKH1. [Tesis doctoral]. Murcia: Universidad de Murcia; 2014.
29. Martín-Salces M. Alteraciones de la hemostasia en los síndromes mielodisplásicos. [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; 2016.
30. Romero-Valverde A. Cicatrización. Revista médica sinergia. 2016. [acceso:20/05/2021]; 1(9): 13-17. Disponible en: <https://revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/45>
31. Barranco-Díaz J. Modelación de la dinámica química y celular en el proceso de cicatrización en la piel sana. [Tesis para la obtención del grado de maestría en Ciencias en Física Aplicadas]. Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2017.
32. Chimbo M. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de las hojas de caña agria (costus spicatus) en ratas (rattus norvegicus) con edemas inducidas por carragenina. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2014.
33. Germán-Macías M. Acción del propóleo sobre el tiempo de cicatrización en heridas post quirúrgicas. [Tesis para optar al grado de Magíster]. Argentina: Universidad Nacional de la Plata; 2018.
34. Altamirano-Arcos C, Martínez-Wagner R, Chávez-Serna E, Espino-Gaucin I, Nahas-Combina L. Cicatrización normal y patológica: una revisión actual de la fisiopatología y el manejo terapéutico. Revista Argentina de Cirugía Plástica. 2019. [acceso: 24/05/2021]; 25(1): 11-15. Disponible en: http://adm.meducatum.com.ar/contenido/articulos/20600110015_1512/pdf/20600110015.pdf
35. De La Cruz Vargas J, Atenuación de cicatrices atróficas e hipertróficas con láser de co2: resultados y análisis de la eficacia y seguridad del tratamiento en 40 pacientes en la clínica Vásquez Lapel durante el periodo de enero del 2017 a diciembre del 2018. [Tesis para optar al Título Profesional de Médico Cirujano]. Lima: Universidad Ricardo Palma; 2020.

36. Schencke C, Vásquez B, Sandoval C, Del Sol M. El Rol de la Miel en los Procesos Morfofisiológicos de Reparación de Heridas. *Int. J. Morphol.* 2016. [acceso: 22/05/2021]; 34(1): 385-395. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v34n1/art56.pdf>
37. Roca M. Actividad bactericida y fungicida de tres tipos de extractos de hoja y corteza de capirona (*Calycophyllum spruceanum* (benth) hook f. ex schumann). [Tesis para optar el grado de Maestro en ciencias en agroecología mención: gestión de bosques tropicales]. Tingo María: Universidad Nacional Agraria de la selva. 2019.
38. Olivera L. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico al 70% de los frutos de *morinda citrifolia* (noni) a diferentes concentraciones en incisiones periodontales inducidas en ratas albinas de raza holtzman, lima, 2018. [Tesis para optar al Título Profesional de Cirujano Dentista]. Cusco: Universidad Andina del Cusco; 2019.
39. Garibay E, Villacorta J. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico del fruto de *genipa americana* "wito" en animales de experimentación. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018.
40. Peixoto H, Roxo M, Koolen H, Da Silva F, Silva E, Santhosh M, et al. *Calycophyllum spruceanum* (Benth.), el árbol de la juventud amazónica prolonga la longevidad y aumenta la resistencia al estrés en *Caenorhabditis elegans*. *Moléculas.Rev. Molecule.* 2018. [acceso: 23/05/2021]; 23(3): 534. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules23030534>
41. Barros da Silva A, Ferreira R, Freitas R, Lima M, Araujo F, Ferr eira H, et al. *Calycophyllum spruceanum* BENTH mejora la inflamación aguda en ratones. *Revista de Etnofarmacología.* 2018. [acceso: 23/05/2021]; 219: 103-109. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.023>
42. Santos A, Ribeiro-Oliveira J, Carvalho C. Sobre botánica, etnofarmacología y química de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum. *Rev. Bras. Plantas med.* 2016. [acceso: 25/05/2021]; 18(1): 383-389. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/qDkDhnnhj85W7ydrjvMPyR/?lang=pt#>

43. Gamarra N. "Usos de Plantas Medicinales para usuarios externos del Hospital Regional Hermilio Valdizan Medrano - Huánuco, 2016" [Tesis para Optar el Título Profesional de Licenciada en Enfermería]. Huánuco: Universidad de Huánuco; 2017.
44. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11ed. México: Editorial Mac Graw Hill; 2007.
45. Arispe C, Yangali J, Guerrero M, Lozada O, Acuña L, Arellano C. La investigación científica. 1ed. Ecuador: Editorial Departamento de Investigación y Postgrados Universidad Internacional del Ecuador; 2020.
46. Alcedo C. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera "keto keto", en ungüento aplicados en ratones *Mus musculus* Balb c. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Maria Auxiliadora; 2018.
47. Lock O. Investigación Fitoquímica - Métodos en el estudio de Productos Naturales. 2ed. Perú: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994.
48. Lacolla D, García M, Toribio M, Sosa A. Acción de extracto de *Cichorium intybus* sobre componentes celulares y tisulares en heridas cutáneas en ratones blancos. Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLPam. 2017. [acceso: 27/05/2021]; 13(1): 48-51. Disponible en: <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1861/1817>
49. Nuñez, D. Efecto de la aplicación tópica del extracto atomizado de maca roja (*Lepidium meyenii*) en el patrón inflamatorio del proceso de cicatrización en ratones machos expedientes a nivel del mar y altura (4380 msnm). [Tesis para optar por el Título Profesional de Licenciada en Biología]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2016.
50. Montero-Ferrer S, González-Quevedo M, Albín-Montalbán G. Estudios preclínicos de los hilos quirúrgicos Agasut. Rev. Cub Med Mil. 2003. [acceso 28/05/2021]; 32(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572003000400014#cargo

51. Montalvo E. Extracto etanólico del cético (*Cecropia* sp.) sobre cicatrización de injurias provocadas en ratones de la cepa Balb c. Tesis de médico veterinario. Santiago: Universidad de Chile; 2016.
52. Valencia-Basto C. Cicatrización: Proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas. Investigaciones Andinas. 2010. [acceso: 29/05/2021]; 12(20): 85-98. Disponible en:
<https://www.scielo.org.co/pdf/inan/v12n20/v12n20a08.pdf>
53. Barrios I, Anido V, Morera M. Declaración de Helsinki: cambios y exégesis. Rev. Cub. de Salud. Pub. 2016. [acceso: 28/05/2021]; 42 (1): 132-142. Disponible en:
<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=64992>
54. Vega S, Watanabe R. Análisis de la ley 30407 Ley de Protección y Bienestar Animal en el Perú. Rev. investig. vet. Perú. 2016. [acceso: 28/05/2021]; 27(2): 388-396. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172016000200023
55. Fuentes-Paredes F, Mendoza-Yanavilca R, Rosales-Fernández A, Cisneros-Tarmeño R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Rev. Instituto Nacional de Salud. 2008. [acceso: 28/04/2021]; 19-21. Disponible en:
http://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/962_INS68.pdf
56. Rossi G. Efecto cicatrizante del aceite de cocos nucifera L. "coco" en heridas de animales de experimentación. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2019.
57. Santamaría Bedón EJ.. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Malva (*Malva sylvestris* L.) y Aguacate (*Persea americana*) en ratones (*Mus musculus*). [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias; 2013.
58. Mendoza N, Chávez J. Efecto cicatrizante del Gel elaborado a partir de la combinación del Aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) y el extracto

- metanólico del látex de *Ficus insípida Willd* (Ojé) en heridas inducidas en ratones albinos. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2019.
59. Prado I. Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana* "Cabuya". [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015.
60. Vilchez-Cáceda A, Inocente-Camones M, Flores-López O. Actividad cicatrizante de seis extractos hidroalcohólicos de plantas en heridas incisas de *Rattus norvegicus albinus*. Rev. Cub de Medic Militar. 2020. [acceso: 30/05/2021]; 49(1):86-100. Disponible en: <http://www.revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/489>
61. Juro S, Flores V, Mendoza Y, del Carpio C. Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de Junglas neotropica Diels "nogal" en ratones albinos. Folia dermatol. Perú. 2010. [acceso: 10/08/2021]; 21(1): 19-24. Disponible en: <http://repebis.upch.edu.pe/cgi-bin/wxis.exe/iah/scripts/?IsisScript=iah.xis&lang=es&base=lipecs&nextAction=lnk&exprSearch=EXTRACTOS%20VEGETALES/USO%20TERAPEUTICO&indexSearch=MH>
62. Mogrovejo A. "Determinación del efecto cicatrizante de un gel estandarizado de *Caléndula officinalis* L. (*Caléndula*) en animales de experimentación." [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María. 2014.
63. Harborne J. Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants. 2 ed. Londres: Taylor y Francis; 1999.

ANEXOS

ANEXO A. MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVOS GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		
<p>¿Cuál es la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo) en ratones albinos <i>Mus Musculus</i>?</p>	<p>El objetivo general del estudio fue evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo) en ratones albinos <i>Mus musculus</i>.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo) presenta efecto cicatrizante en ratones albinos <i>Mus musculus</i>.</p>	V1.	DIMENSIÓN	INDICADORES
			<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Capirona de bajo).</p>	Fitoquímica.	<p>Identificación de metabolitos secundarios.</p> <p>Reacciones químicas de precipitación, coloración y pruebas de solubilidad.</p>
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	V2.	DIMENSIÓN	INDICADORES
<p>P.E.1: ¿Qué metabolitos secundarios con actividad cicatrizante tiene el extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo)?</p> <p>P.E.2: ¿Cuál es la concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo) que posee actividad cicatrizante en ratones albinos <i>Mus musculus</i>?</p> <p>P.E.3: ¿Cuál es la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo) comparado con Bepanthen en ratones albinos <i>Mus musculus</i>?</p>	<p>O.E.1: Detectar los metabolitos secundarios activos que poseen actividad cicatrizante, en ratones albinos <i>Mus musculus</i>; presentes en el extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo), mediante análisis fitoquímico cualitativo.</p> <p>O.E.2: Precisar la concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo) que posee actividad cicatrizante, en ratones albinos <i>Mus musculus</i>.</p> <p>O.E.3: Comparar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo) con Bepanthen en ratones albinos <i>Mus musculus</i>.</p>	<p>H.1: El extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo) posee metabolitos secundarios con actividad cicatrizante, en ratones albinos <i>Mus musculus</i>, como flavonoides, taninos y compuestos quinónicos.</p> <p>H.2: Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo), que posee actividad cicatrizante en ratones albinos <i>Mus musculus</i>.</p> <p>H.3: El extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo) tiene actividad cicatrizante en comparación con Bepanthen en ratones albinos <i>Mus musculus</i>.</p>	<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Efecto cicatrizante en ratones albinos</p>	<p>Tiempo de cicatrización.</p> <p>Método Tensiométrico y Vaisberg.</p>	<p>Días de cicatrización.</p> <p>Resistencia de la herida a la fuerza de tensión.</p>

ANEXO B. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	N° ITEM	VALOR FINAL	CRITERIOS
VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo).	Cualitativo y Longitudinal	Aquella sustancia extraída por el etanol, que posee una composición química que le proporciona una acción farmacológica útil en la terapéutica.	Extracto hidroalcohólico es la forma práctica de concentrar y obtener los principios activos que sintetizan los metabolitos secundarios.	Frecuencia de tratamiento	Horas	1	Cada 12 horas	Registro de dosis y frecuencia
				Concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth.) Hook. f. ex K. Schum. (capirona de bajo)	Concentraciones específicas	7	Al 2.5% Al 5% Al 10% Al 20% Blanco Control + Control -	Concentración final
				Fitoquímico	Metabolitos	4	Abundante (+++) Moderado (++) Leve (+) Ausencia (-)	
VARIABLE DEPENDIENTE Actividad cicatrizante	Cuantitativo y Longitudinal	La actividad cicatrizante es la regeneración de tejidos para la reconstrucción de la piel	El tiempo y el tamaño de la herida se compara con la acción de un cicatrizante farmacológico conocido. A menos tiempo de cicatrización tendrá un efecto favorable. Una rápida regeneración de la herida tendrá un efecto favorable.	Tiempo de cicatrización	Valor en mm de cierre de la herida	2	Milímetros gramos	Días
				Gramos necesarios para la abertura de la herida cicatrizada.	Peso			Valores del porcentaje del test de cicatrización.

ANEXO C. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ÍNDICE AFROSIMÉTRICO

Índice afrosimétrico	Resultados
Prueba de la espuma (Saponinas)	

Donde: Ausencia (-) Leve (+) Moderado (++) Abundante (+++)

PH DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DESECADO DE LA CORTEZA

Determinación del pH	Temperatura (°C)	Resultados

Donde: ácido: <7 Neutro: 7 Básico: >7

SOLUBILIDADES DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

SOLVENTES	RESULTADOS
Agua destilada	
Etanol 96 %	
Etanol 70 %	
Acetona	
Cloroformo	
Benceno	

Donde: (-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble

MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	ENSAYO	REACCIÓN
Flavonoides Taninos Compuestos fenólicos	Reactivo FeCl₃ 2%	
	Reactivo AlCl₃ 2%	
	Reactivo Acetato de Plomo	
Alcaloides	Reactivo . Dragendorff	
	Reactivo Otto	
Antraquinonas Naftoquinonas Compuestos quinónicos	Reactivo Borntrager	

Donde: (+++) Abundante (++) Moderado (+) Leve (-) Ausencia

FICHA DE OBSERVACIÓN Y REGISTRO DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN

Nº DE GRUPO:

N	CONCENTRACIÓN	LONGITUD DE LA HERIDA (mm)				
		DIA 0	DIA 1	DIA 5	DIA 10	DIA 15
1						
2						
3						
4						
5						
6						
PROMEDIO						

FICHA DE REGISTRO DE DOSIS Y FRECUENCIA DEL TRATAMIENTO

Registro de dosis y frecuencia de tratamiento del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona de bajo)																
Día de tratamiento	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10	Día 11	Día 12	Día 13	Día 14	Día 15	
Dosis: 0.1 ml c/12h x día																
Grupo 1: E.H.C 2.5%																
Grupo 2: E.H.C 5%																
Grupo 3: E.H.C 10%																
Grupo 4: E.H.C 20%																
Grupo 5: C. Positivo																
Grupo 6 : C. Negativo																

Leyenda:

M: Dosis de tratamiento diurno.

N: Dosis de tratamiento nocturno.

E.H.C. Extracto Hidroalcohólico de Capirona.

FICHA DE REGISTRO DEL PESO EN GRAMOS

GRUPOS:	R1		R2		R3		R4		R5		R6		PESO TOTAL DE RATONES (gramos)	PESO TOTAL ARENA (gramos)
	P.R.	P.A.	P.R.	P.A.	P.R.	P.A.	P.R.	P.A.	P.R.	P.A.	P.R.	P.A.		
BLANCO														
CONTROL POSITIVO														
CONTROL NEGATIVO														
E.H.C. 2.5%														
E.H.C. 5%														
E.H.C. 10%														
E.H.C. 20%														

Leyenda:

P.R. = Peso del ratón

P.A. = Peso de la arena

E.H.C = Extracto hidroalcohólico de capirona

ANEXO D. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

IDENTIFICACION TAXONOMICA DE ESPECIMENES VEGETALES

TESIS DE INVESTIGACIÓN 2017

RUTH VIOLETA ZEVALLOS ESCALANTE

N°	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	FAMILIA	HABITO	HABITAT	LOCALIDAD	COORDENADAS		ALTITUD	COLECTOR	FECHA COL.	ID	FECHA ID
							ESTE	NORTE					
1	<i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth.) Hook.f. ex K.Schum.	"Capirona de bajo"	RUBIACEAE	Arbol	Bosque de terraza inundable	Chonta, Tambopeta, Madre de Dios	476551	8601315	200 m.	Ruth Violeta Zevallos Escalante (RVZE)	27 de Agosto de 2017	HDL	28/08/2017

Referencias:

- Vouchers colección RVZE, 2017.
- Vouchers Herbario San Marcos (HSM), 2017
- Vouchers Herbario MOL, 2016
- Vouchers Herbario Gentry, UNAMAD, 2017
- Angiosperm Phylogenetic Group (APG IV), 2016
- The Plant List, 2017
- Tropicos, Missouri Botanical Garden, 2017
- Field Museum of Chicago, 2017
- Brako, I & J.L. Zaruchi (eds.) 1993.
- Fuente: <http://tnrs.iplantcollaborative.org/TNRSapp.html>, junio 2015


 M.Sc. Hugo Dueñas Linares
 ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN
 TAXONÓMICA DE FLORA
 Reg. N° 028 - DGFFS - MA

Puerto Maldonado, 28 de Agosto de 2017

M.Sc. Hugo Dueñas Linares
Especialista en ID taxonómica de Flora

ANEXO E. CONSTANCIA DE BIOTERIO DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 035- 2021

Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M – 20 - 2021
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 40
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 45 días.
Peso	: 25 a 30 g.	Sexo	: Macho.
R.U.C.	: --	Destino	: Gina Isabel Labajos T.
Guía de Remisión	: 039225		
Fecha	: 18-05-2021		

El Médico Veterinario, que suscribe, **Jorge Ruiz Alarcón** Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia: PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 18 de mayo del 2021.

(Fecha de emisión del certificado)


M.V. Jorge Ruiz Alarcón.
C.M.V.P. 5052

NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.

ANEXO F. EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS DEL TRABAJO DE CAMPO



Fotografía N° 01: Especie vegetal *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K.Schum (capirona de bajío) en su hábitat natural



Fotografía N° 02: Recolección de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajío)



Fotografía N° 03: Secado de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo)



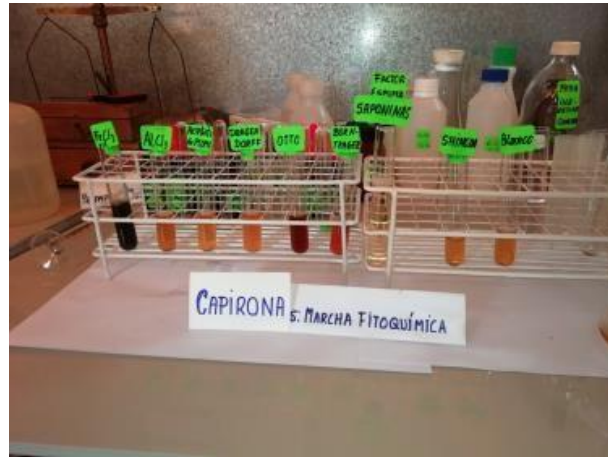
Fotografía N° 04: Pesado de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo)



Fotografía N° 05: Molienda de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo)



Fotografía N° 06: Prueba de solubilidad de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo)



Fotografía N° 07: Marcha fitoquímica de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de bajo), cambio de color en los tubos de ensayo en respuesta a los metabolitos secundarios



Fotografía N° 08: Maceración y extracción del principio activo



Fotografía N° 09: Reducción del principio activo



Fotografía N° 10: Melcocha en estado de gel



Fotografía N° 11: Proceso de secado de la melcocha



Fotografía N° 12: Obtención del extracto hidroalcohólico de capirona a diferentes concentraciones



Fotografía N° 13: Proceso de selección y aclimatación de los especímenes de investigación en grupos de seis



Fotografía N° 14: Administración de Ketamina para el anestesiado de los especímenes



Fotografía N° 15: Depilación del lomo del ratón



Fotografía N° 16: Medición y marcación del área (1 cm) de los especímenes



Fotografía N° 17: Realización de la incisión en el lomo del ratón



Fotografías N° 18: Administración vía tópica del extracto hidroalcohólico de capirona a los diferentes grupos de estudio



Fotografía N° 19: Realización de la prueba del dinamómetro