

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**“ESTUDIO DE LOS ALCALOIDES DE *Croton*  
*draconoides* “SANGRE DE GRADO”, SU  
ACTIVIDAD CICATRIZANTE Y EL DISEÑO DE  
UNA FORMA FARMACÉUTICA.”**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**AUTOR**

Obando Barrera, Lucio Henry

**ASESOR**

César Máximo Fuertes Ruitón

**Lima – Perú**

**2015**

## DEDICATORIA

*A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional y desinteresado apoyo y por el valor mostrado para salir adelante.*

*A mis hermanos por enseñarme a cultivar la lealtad y solidaridad con mis semejantes y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de estas tesis.*

*A mi hija María Fernanda por ser la niña que me cambio la vida y por la cual crezco profesional y personalmente. Gracias por regalarme tu sonrisa. Te amo.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A la **Universidad Nacional Mayor de San Marcos** y a la **Facultad de Farmacia y Bioquímica**, Alma Mater de nuestra profesión por formarnos y orientarnos a ser buenos profesionales de la salud.*

*Al **Mg. César Máximo Fuertes Ruitón**, mi asesor y docente de la **Facultad de Farmacia y Bioquímica** de la **UNMSM**, por su generosidad y la oportunidad de realizar esta tesis y compartir su amplia experiencia y conocimientos en un marco de confianza y amistad para culminar el presente trabajo.*

*Mi sincero agradecimiento a **mis Maestros** de la **Universidad Nacional Mayor de San Marcos** por hacer posible que la ciencia alimente mis ganas de vivir y seguir adelante.*

*Al **Presidente** y a los **Miembros del Jurado** Examinador y Calificador, nombrado por la **Facultad de Farmacia y Bioquímica**.*

*Y finalmente, gracias a quienes hicieron posible la realización de este trabajo, y el logro mayor que fue la sustentación, a la **Unidad de Pregrado** de la **Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM**, muchas gracias.*

## ÍNDICE

### RESUMEN

### ABSTRACT

<b>I INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Hipótesis .....	2
1.2 Objetivos .....	2
<b>II MARCOTEÓRICO</b> .....	3
2.1 Características de la familia <i>Euphorbiaceae</i> y género <i>Croton</i> .....	3
2.2 Látex del género <i>Croton</i> .....	8
2.3 Cicatrización .....	9
2.4 Tecnología farmacéutica “crema” .....	11
<b>III PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	12
3.1 Material, equipo y reactivos .....	12
3.2 Metodología .....	13
3.3 Diseño de la forma farmacéutica .....	18
3.4 Administración de la crema y comprobación de su efecto cicatrizante	21
<b>IV RESULTADOS</b> .....	27
<b>V DISCUSIÓN</b> .....	41
<b>VI CONCLUSIONES</b> .....	45
<b>VII RECOMENDACIONES</b> .....	46
<b>VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	47
<b>IX ANEXOS</b> .....	

### RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo, realizar el estudio de los alcaloides del látex de la especie *Croton draconoides* “sangre de grado”, y la elaboración de una forma farmacéutica (crema) de acción cicatrizante. La parte experimental se desarrolló en tres etapas: obtención, caracterización y liofilización del látex de la especie *Croton draconoides*, e incorporación y evaluación de la actividad cicatrizante del látex liofilizado en una forma farmacéutica de aplicación tópica. Se obtuvo el látex mediante el método de incisión sobre la corteza del árbol, recolectado en el departamento de Ucayali, provincia de Coronel Portillo, distrito de Yarinacocha.

Se le realizó el liofilizado del látex y se desarrolló técnicas fisicoquímicas, cromatográficas y análisis fitoquímicos. Se evaluó el efecto cicatrizante utilizando el método de incisión en la piel de ratones previamente anestesiados, empleándose concentraciones de 0.5%, 1.0 %, 1.5% y 2.0% del látex liofilizado incorporado en la forma farmacéutica, junto a un grupo placebo y control. Se determinó que la mayor actividad cicatrizante, después de las 96 horas de tratamiento, ocurrió cuando se le aplicó la crema al 1.5%.

**Palabras clave:** *Croton draconoides*, alcaloides, acción cicatrizante, liofilización, crema, látex.

**ABSTRACT**

This study had as objective the study of alkaloids species *Croton draconoides* latex "sangre de grado" and the development of a pharmaceutical formulation (cream) of healing action. The experimental part was developed in three stages: collection, characterization and lyophilization of the latex of the species *Croton draconoides*, incorporation and evaluation of the healing activity of the freeze dried latex in a topical dosage form. The latex was obtained by cuts on the bark collected in the department of Ucayali province of Coronel Portillo, Yarinacocha area tree.

He underwent the lyophilized latex and physicochemical techniques, chromatographic and phytochemical march took place. The healing effect using the method skin incision previously anesthetized mice, using concentrations of 0.5%, 1.0%, 1.5% and 2.0% of lyophilized latex incorporated into the dosage form, and with a placebo control group was evaluated. It was determined that the greatest healing activity after 96 hours of treatment, occurred when the cream was applied to 1.5%.

**Keyword:** *Croton draconoides*, alkaloids, healing action, lyophilization, cream, latex.

## I. INTRODUCCIÒN

En la actualidad se hace cada vez más frecuente el uso de especies o recursos vegetales como solución a diferentes problemas de salud, sin que estos usos hayan sido confirmados científicamente. *Croton draconoides*, es una especie nativa adaptada en la amazonia peruana, produce un látex característico y muy similar en color a la sangre humana, proviene del término “Sanguis Draconis” que indica la resina de los frutos de la *Daemonorops draco* y también llamada *Calamus rotang* o *Calamus draco*, por ello la denominación del nombre de sangre de grado<sup>1</sup>. El látex ha sido usado como cicatrizante, antiinflamatorio y antiulceroso en la medicina tradicional. En esta investigación, se trata de contribuir con los estudios de investigación usando como base el *Croton draconoides* “sangre de grado”, recurso vegetal utilizado en la medicina tradicional de nuestro país, buscando demostrar la actividad cicatrizante del látex liofilizado.

Por tal razón, en el presente estudio se señalan como objetivos el estudio fitoquímico de los alcaloides y la determinación de la propiedad cicatrizante y elaborar una forma farmacéutica de aplicación tópica a partir del látex de *Croton draconoides*

## 1.1 HIPÓTESIS

El látex de *Croton draconoides* “sangre de grado”, incorporado en una forma farmacéutica, posee propiedad cicatrizante.

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 Objetivo general**

Determinar la propiedad cicatrizante y elaborar una forma farmacéutica de aplicación tópica a partir de la extracción y aislamiento de los alcaloides del látex de *Croton draconoides* “Sangre de grado”.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

- Extraer y estudiar fitoquímicamente los alcaloides de *Croton draconoides* “sangre de grado”.
- Diseñar y elaborar una forma farmacéutica
- Determinar la actividad cicatrizante de los alcaloides de *Croton draconoides*.

## **II. MARCO TEÓRICO**

## 2.1. Características de la familia y género *Croton*

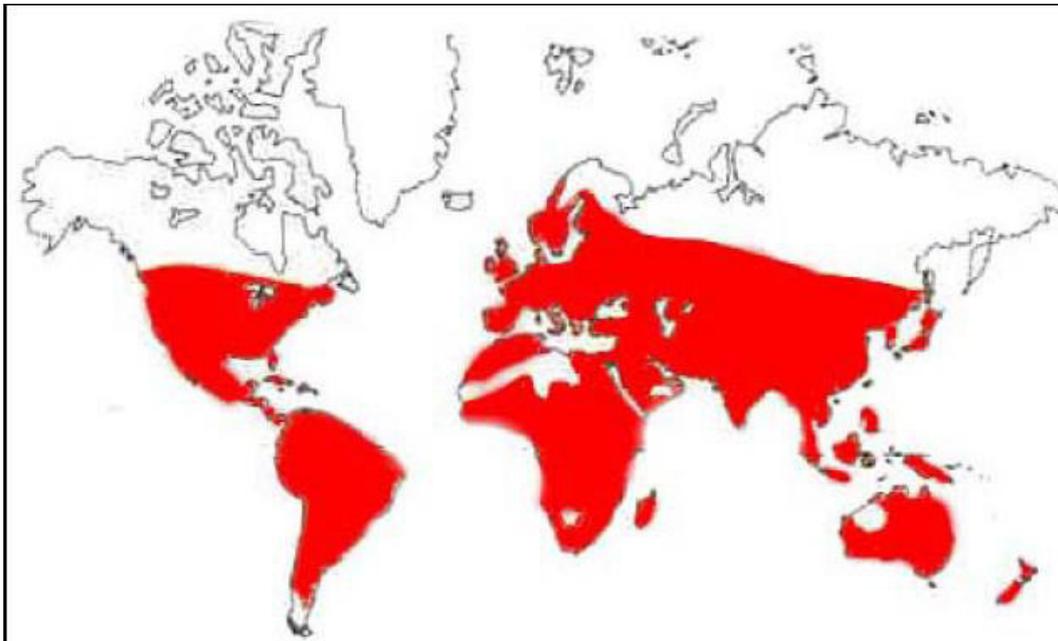
### 2.1.1 Familia Euphorbiaceae

La familia Euphorbiaceae está conformada por alrededor 200 géneros y 7000 especies<sup>1</sup>. Es reconocida en el Perú por presentar 61 géneros y 323 especies, mayormente arbustos y árboles. El género *Croton* es el más numeroso en especies endémicas. Los taxones endémicos ocupan varias regiones, entre ellas bosques húmedos amazónicos, mesoandina y bosques muy húmedos montanos, entre los 110 y 3200 m de altitud. Se aplicaron las categorías y criterios de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), a 33 taxones. “Sangre de grado” es una especie que se encuentra representada en el Sistema Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado<sup>2</sup>.

### Características de las especies de la familia Euphorbiaceae<sup>3</sup>

- **Porte:** hierbas, arbustos y árboles con látex, a veces carnosos y cactiformes.
- **Hojas:** generalmente simples, cuando compuestas, palmadas; alternas u opuestas, con estípulas que pueden estar transformadas en espinas o glándulas.
- **Flores:** imperfectas monoicas o dioicas, dispuestas en espigas o racimos. En Euphorbia la inflorescencia característica es el ciatio.
- **Perianto:** generalmente de cinco piezas, simples, sepaloideas y en otros casos el perianto está totalmente ausente.
- **Estambres:** Filamentos libres o soldados, a veces ramificados, insertos sobre un disconectarífero; con anteras bitecas y dehiscencia longitudinal.
- **Gineceo:** ovario súpero, con tres carpelos soldados, con 3 lóculos con uno o dos óvulos cada uno, placentación axilar, estilos libres o unidos en forma variable.

- **Fruto:** generalmente esquizocarpo, algunas veces drupa.
- **Semilla:** con embrión recto o curvo, a menudo con ornamentación muy variada y de alto interés taxonómico, en ocasiones con abundante endosperma oleaginoso.



**Figura 1. Distribución de las especies de la familia Euphorbiaceae en el mundo<sup>3</sup>**

### **2.1.2 Género *Croton***

*Croton* es un género de la familia Euphorbiaceae con cerca de 1.300 especies, ampliamente distribuido en regiones tropicales del mundo. Varias especies tienen un papel muy importante en el uso tradicional de las plantas medicinales en África, Asia y América del Sur.<sup>4</sup>

El género *Croton* es el más representativo en cuanto a especies productoras de sangre de grado, siendo *Croton lechleri*, la especie más utilizada y estudiada.<sup>5</sup>



**Figura 2. Látex del género *Croton lechleri* por incisión de la corteza.<sup>5</sup>**

Estas especies se caracterizan por presentar un rudimento seminal en cada cavidad ovárica, tubos laticíferos frecuentemente, flores no dispuestas en ciatos, estambres incurvados hacia el centro. En las flores masculinas a menudo existe corola; en las femeninas suele faltar<sup>6</sup>

En el campo el género *Croton* suele ser fácilmente reconocible por tener un conjunto de caracteres que hacen visible sus tricomas estrelladas o escamosas, inflorescencias estrechas o condensadas de flores unisexuales, llorosos de savia de color y frecuentes, glándulas peciolares y hojas senescentes<sup>7</sup>

Este género ha sido estudiado desde el punto de vista fitoquímico, en función de la presencia de compuestos carcinogénicos en algunas de sus estructuras<sup>8</sup> y también han sido investigadas sus usos terapéuticos como el de la regeneración de tejidos, su actividad antioxidante, curación de úlceras, propiedades antidiarréicas, anticancerígenas, antiinflamatorias y antirreumáticas. Se evidenció sus propiedades antisépticas a nivel vaginal.<sup>9,</sup>

10

**Tabla 1. Especies del género *Croton* que producen látex.**

- *Draco* Cham. et Schldl.
- *Draconoides* Müll. Arg.
- *Equinocarpus* Müll. Arg.
- *Erythrochilus* Müll. Arg.
- *Ferrugineus* Kunth.
- *Gossypifolius* var. *hibiscifolius* (Kunth.) Müll. Arg.
- *Lechleri* Müll. Arg.
- *Magdalenensis* Müll. Arg.
- *Methodorus* Benth.
- *Palanostigma* Klotsch,
- *Panamensis* Müll. Arg.
- *Riviniaefolius* H.B.K.
- *Salutaris* Casar.
- *Sordidus* Benth.
- *Urucurana* Baill.
- *Xalapensis* H.B.K.

**2.1.3 Descripción de la especie.**

**a. Descripción botánica**

*Croton draconoides* es un árbol de 30-80 cm de diámetro y 18-30 m de altura total, con las ramificaciones desde el segundo tercio, con corteza externa agrietada color marrón claro y de una corteza interna homogénea y suave, color rosado claro; al ser cortada exuda savia roja abundante y traslúcida. Posee ramitas terminales con sección circular, color marrón claro cuando secas, de 2-4 mm de diámetro, cubiertas de pelos estrellados, sobre todo hacia las zonas apicales y tiene unas hojas simples, alternas y dispuestas en espiral, de 12-35 cm de longitud y 6-15 cm de ancho, el peciolo de 6-18 cm de longitud, con 1-2 glándulas pequeñas y rojizas en la zona de juntura con la base de la lámina. Inflorescencias en espigas terminales de 25-35 cm de

longitud, sus flores pequeñas y unisexuales, de 1-2 mm de longitud, con el perianto reducido, de 1-2 mm de longitud, las flores masculinas con estambres numerosos, de 1-2 mm de longitud, las flores femeninas con ovario globoso, de 1 mm de longitud, los estilos filiformes de 1-2 mm de longitud. Sus frutos son cápsulas 3-valvares pequeñas, de 2-4 mm de longitud.<sup>11, 12</sup>



**Figura 3. Hojas y látex de *Croton draconoides* “sangre de grado”**



**Figura 4. Hojas desecadas de *Croton draconoides* “sangre de grado”**

### **b. Distribución**

En el Perú se encuentra distribuido en la región amazónica, mayormente debajo de los 700 m.s.n.m. Se le observa en ámbitos con pluviosidad elevada y constante, pero también en zonas con una estación seca marcada. Es una especie heliófita, de crecimiento rápido, características en bosques secundarios pioneros y zonas con alteración humana, en suelos de textura y niveles de acidez variados, de baja fertilidad, bien drenados, con pedregosidad baja a media.<sup>3,4</sup>

## **2.2 Látex de las especies del género *Croton* (Euphorbiaceae)**

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<sup>13</sup>, anticancerígenas<sup>14</sup> y probablemente su actividad antitumoral<sup>15</sup>, etc, por el contenido del alcaloides como la taspina, la 4,0, metilcedrusia, 3'4'0, dimetilcedrusina<sup>16</sup>, y el principio SP-303, una proantocianidina oligomérica<sup>17 18</sup>. También se utiliza para problemas digestivos, como el tratamiento de úlceras gástricas, para uso renal y hepática<sup>17</sup> y para uso externo en las inflamaciones dérmicas. Se usa también en el acné y se dice que eleva las defensas del organismo.<sup>11</sup>

## 2.3 Cicatrización

La cicatrización es un proceso dinámico, interactivo y complejo<sup>19</sup>, en el cual participan mediadores solubles extracelulares, células sanguíneas, células de la matriz tisular, y del parénquima<sup>20</sup>, para el restablecimiento del tejido lesionado<sup>21</sup>. 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.<sup>21, 22</sup>

### 2.4.1 Fases de la cicatrización de las heridas.<sup>22, 23</sup>

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<sup>23</sup>.

- 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 colágeno, 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.

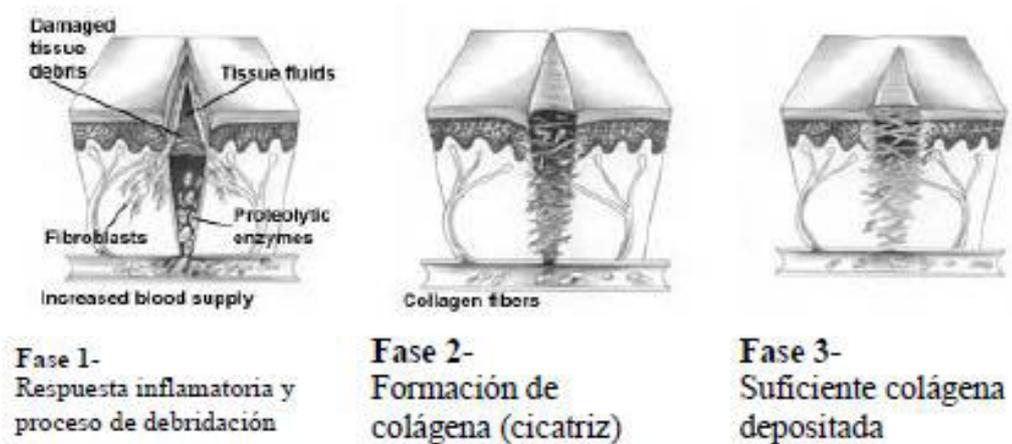


Figura 5. Fases del proceso de cicatrización<sup>22</sup>.

## 2.4 Tecnología farmacéutica “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 protectora<sup>24</sup>. Las cremas se pueden formular a partir de una variedad de aceites, minerales y vegetales, y de alcoholes grasos, ácido grasos y ésteres grasos<sup>25</sup>.

### **Características:**<sup>26</sup>

- 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

## III.PARTE EXPERIMENTAL

### 3.1. Materiales, equipos y reactivos

#### 3.1.1 Materiales e insumos químicos

- Material e instrumentos de laboratorio
- Látex de *Croton draconoides*.
- Alcohol etílico 96°
- Propilenglicol (marca Merck°)
- Glicerina
- Agua destilada
- Cera lanette
- Pentobarbital sódico 6.5%
- Guantes quirúrgicos
- Gafas y mascarillas de seguridad.

#### 3.1.2 Reactivos

- Metanol anhidro (Merck°), cloroformo (Merck°), diclorometano (Merck°) cloruro férrico, ácido acético (JKF), cristal violeta, ácido clorhídrico concentrado (Merck°), Reactivo de Mayer, reactivo de Poppof, reactivo de Fehling, reactivo de Tollens, yodoplatino, reactivo de Burchard, reactivo de Draguendorf, vainillina, reactivo de Salkowsky, Shiff, 2,4 dinitrofenilhidrazina e hidroxilamina, Silica gel G<sub>254</sub>.

#### 3.1.3 Material biológico

\* Ratones albinos machos de la especie *Mus musculus* y de la cepa Balb/c/CNPB; de aproximadamente 9 semanas de edad y peso entre 24 a 31 gramos.

\* Látex de *Croton draconoides*.

### 3.1.4 Equipos

- ◆ Campana de extracción Esco (kossodo)
- ◆ Equipo de liofilización Drycol
- ◆ Balanza analítica Sartorius sensible al 0,1 gramo
- ◆ Cocinilla eléctrica
- ◆ Aparato de tensión Howes y Col



**Figura 6. Aparato de tensión (Howes y Col) para medir la actividad cicatrizante**

## 3.2. Metodología

### 3.2.1 Recolección e identificación de la planta

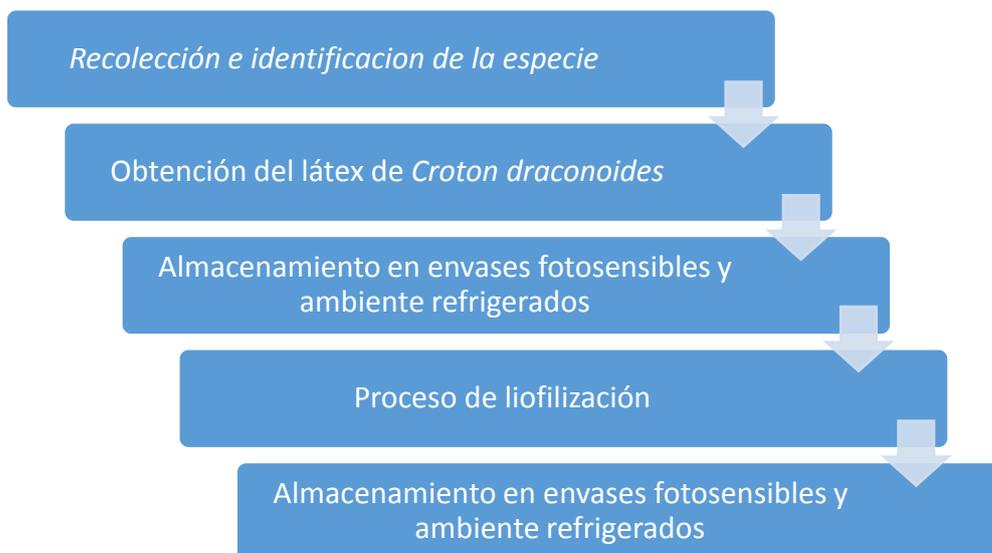
La planta se ubicó y recolecto según los datos en tabla:

**Tabla 2. Cuadro de recolección e identificación de la *Croton draconoides***

Departamento	Ucayali
Provincia	Coronel Portillo
Distrito	Yarinacocha
Localidad	Dos de mayo
Altitud	160 m.s.n.m
Hàbitat	Plantaciòn
Porte	Àrbol
Flores	Macho - Flores color amarillo
Fruto	- - - -
Nombre vulgar	Sangre de grado
Fecha	12/08/2012
Colector	L. Obando
Otros datos	- - - -

### 3.2.2 Obtención del látex y su proceso de liofilización

Se realizó incisiones en la corteza de la planta para obtener un aproximado de 500 gramos de muestra “látex de sangre de grado”, y la resina se almacenó en recipientes protegidos de la luz (fotosensibles) y en ambientes de 2 a 8°C. La liofilización se llevó a cabo en los laboratorios de la Facultad de Química de la Universidad Nacional del Callao y se almacenó en las mismas condiciones que la resina.



**Figura 7. Pasos para la obtención y liofilización del látex de *Croton draconoides***

### **3.2.3 Análisis fisicoquímico del liofilizado de *Croton draconoides***

#### **a. Prueba de solubilidad**

- Muestra problema: Liofilizado del látex de *Croton draconoides*
- Procedimiento: Se colocó en cada tubo de ensayo aproximadamente 500 mg de liofilizado y se adicionó 5 mL de solvente y se agitó por 2 a 3 minutos.
- Solventes utilizados: Agua destilada, metanol, alcohol etílico 96°, glicerina, propilenglicol, cloroformo.



**Figura 8. Solubilidad del liofilizado del látex de *Croton draconoides* con alcohol etílico 96° y PEG (1:1)**

**b. Marcha fitoquímica**

- Muestra problema: Liofilizado del látex de *Croton draconoides*
- Procedimiento: Se colocó en cada tubo de ensayo 20 mg de liofilizado del látex de *Croton draconoides*, y se adicionó 5 mL de etanol absoluto, se agitó por 2 a 3 minutos.
- Reactivos usados (Tabla 3).<sup>27, 28</sup>

**Tabla 3. Reconocimiento fitoquímico de los compuestos del liofilizado del látex de *Croton draconoides*.**

<b>Reactivo</b>	<b>Identificación</b>
Cloruro férrico	Compuesto fenólicos y Taninos
Ninhidrina	Aminoácidos
Shinoda	Flavonoides
Liebermann + Burchard	Triterpenos y Esteroides
Fehling y Tollens	Azúcares reductores
Draguendorff, Mayer	Alcaloides
Quinonas	Bortrager
Baljet	Compuestos lactónicos y cumarinas
Rosemhein	Antocianidinas

**c. Cromatografía en capa fina.**

**Identificación de alcaloides.**<sup>28, 29</sup>

- Muestra problema: Liofilizado del látex de *Croton draconoides*
- Muestra de referencia (a): Látex de *Croton lechleri*
- Muestra de referencia (b): Látex de *Croton palanostigma*
- Fase móvil: Acetato de etilo: Metanol: Agua (100:13,5:10)
- Fase estacionaria: Placa cromatográfica de Silica gel G<sub>254</sub>
- Solución reactivo revelador: solución de Dragendorff
- Procedimiento: Se diluyó por separado 1,0 gramo de liofilizado de látex de *Croton draconoides*, y de las muestras de referencias (a y b) en 10 mL de metanol. Se realizó una dilución más de 1 en 10 mL de metanol de cada solución. Se aplica 5 µL en la placa cromatográfica y se deja que la fase móvil recorra hasta tres cuartos de la fase estacionaria y se revela con solución de Dragendorff.

**d. Cuantificación volumétrica.**<sup>24, 29</sup>

- Muestra problema: Liofilizado del látex de *Croton draconoides*
- Indicador: Cristal violeta
- Solución volumétrica: Ácido Perclórico 0.1N.
- Procedimiento: Se acidificó 1,0 gramo del liofilizado de látex de *Croton draconoides*, con 15 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2%, y luego se alcalinizó con NH<sub>3</sub> hasta pH 11. Para después ser extraído con diclorometano, hasta que se produzca una reacción negativa con el reactivo de Dragendorff, y se lleva a 25 mL con el mismo solvente. Se toma una alícuota de 10 mL y se añade 15 mL de ácido acético glacial y se valoró con ácido perclórico 0.1N, utilizando cristal violeta como indicador. Se realizó una determinación en blanco en las mismas condiciones y se trabajó por duplicado.

### 3.3 Diseño de la forma farmacéutica

Para el diseño se tomó como principal referencia que la forma farmacéutica a elaborar tenga aplicación tópica como cicatrizante; por tal motivo esta debería contar con poder de penetración a través de la piel, por lo que se decidió en un diseño semisólido como una crema, que permitiera la fácil incorporación del liofilizado del látex de *Croton draconoides*. Se realizó una revisión bibliográfica acerca de las formas farmacéuticas que faciliten la incorporación del látex de *Croton draconoides*, o sus diferentes especies, para lo cual se seleccionó la formulación de una crema. Se tomó como referencia el producto de sangre de grado de la industria farmacéutica “HERSIL S.A.”.<sup>30</sup>

La preparación de las distintas presentaciones de la crema se desarrolló de la siguiente forma:

#### 3.2.1.1 Crema de *Croton draconoides* “sangre de grado” al 0,5%

- Liofilizado del látex de *Croton draconoides*.....0,250 gramos
- Propilenglicol.....1,0 gramos
- Alcohol etílico 96° .....1,0 gramos
- Crema base lanette..... 47,750 gramos



**Figura 9. Preparación de crema de *Croton draconoides* “sangre de grado” al 0,5%**

\* Se preparó la crema base lanette y se incorporó la solución del liofilizado del látex de *Croton draconoides*. Se procedió a mezclar, hasta obtener un semisólido homogéneo y su inmediato envasado.

### 3.3.2 Crema de *Croton draconoides* “sangre de grado” al 1,0%

- Liofilizado del látex de *Croton draconoides*.....0,500 gramos
- Propilenglicol..... 2,0 gramos
- Alcohol etílico 96°..... 2,0 gramos
- Crema base lanette.....45,500 gramos



**Figura 10. Preparación de crema de *Croton draconoides* “sangre de grado” al 1,0%**

Se preparó la crema base lanette y se incorporó la solución del liofilizado del látex de *Croton draconoides*. Se procedió a mezclar, hasta obtener un semisólido homogéneo y su inmediato envasado.

### 3.3.3 Crema de *Croton draconoides* “Sangre de grado” al 1,5%

- Liofilizado del látex de *Croton draconoides*.....0,750 gramos
- Propilenglicol..... 3,0 gramos
- Alcohol etílico 96°..... 3,0 gramos
- Crema base lanette..... 43,250 gramos



**Figura 11. Preparación de crema de *Croton draconoides* “sangre de grado” al 1,5%**

Se preparó la crema base lanette y se incorporó la solución del liofilizado del látex de *Croton draconoides*. Se procedió a mezclar, hasta obtener un semisólido homogéneo y su inmediato envasado.

#### **3.3.4 Crema de *Croton draconoides* “sangre de grado” al 2,0%**

- Liofilizado del látex de *Croton draconoides*. 1,000 gramos
- Propilenglicol.....4,0 gramos
- Alcohol etílico 96° .....4,0 gramos
- Crema base lanette.....41,000 gramos



**Figura 12. Preparación de crema de *Croton draconoides* “sangre de grado” al 2,0%**

- Se preparó la crema base lanette y se incorporó la solución del liofilizado del látex de *Croton draconoides*. Se procedió a mezclar, hasta obtener un semisólido homogéneo y su inmediato envasado.

### **3.4 Administración de la crema y comprobación de su efecto cicatrizante.<sup>31</sup>**

#### **3.4.1 Procedimiento**

- Se depiló el lomo de los ratones, previamente desinfectado y anestesiado con pentobarbital sódico de 50 mg/kg de peso.
- Se conservó a los animales con agua y comida “ad libitum”
- Se realizó una incisión de 15 mm de largo en el tercio anterior del lomo y perpendicular al eje longitudinal del ratón.



**Figura 13. Ratón con lomo depilado.**

- Se administró en forma tópica las cremas, según grupo control definido.
- El tratamiento se repitió cada 12 horas y con una duración de cuatro días.
- Inmediatamente después de la muerte del animal. Se hizo una argolla con seda negra a 0,5 cm de los bordes de la herida con el fin de pasar una aguja por ella a fin de ejercer la tensión para abrir la herida



**Figura 14. Administración de la crema del liofilizado del látex de *Croton draconoides* “sangre de grado”**



**Figura 15. Ratón tratado con la crema del liofilizado del látex de *Croton draconoides* “sangre de grado”.**

- Se colocó el animal en posición de cúbito ventral sobre el aparato de tensión.
- Dejar caer la arena al vaso de plástico y anotar la cantidad en gramos que se necesitó para abrir la herida.
- Desarrollar los cálculos de la fuerza de tensión de acuerdo a la fórmula de % de actividad cicatrizante y el análisis estadístico respectivo.
- La fórmula empleada fue la siguiente:

$$\% \text{Actividad cicatrizante} = [WbSt - WbSc] / WbSc \times 100$$

Donde:

WbSc = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo control tratado (control I)

WbSt = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo control tratado (control II al control VIII).



**Figura 16. Aparato de tensión (Howes y Col) para medir la actividad cicatrizante.**

### **3.5. Determinación de la actividad cicatrizante**

#### **3.5.1 Diseño experimental**

- a.** Para la determinación de la actividad cicatrizante, se evaluaron 56 ratones.
- b.** Inicialmente se dividieron en ocho grupos de siete ratones cada uno.

Tabla 4. Diseño experimental

Grupo/ Crema	Sin crema	Crema base lanette	Crema del liofilizado del látex de <i>Croton</i> <i>draconoides</i> "sangre de grado" al 0,5%	Crema del liofilizado del látex de <i>Croton</i> <i>draconoides</i> "sangre de grado" al 1,0%	Crema del liofilizado del látex de <i>Croton</i> <i>draconoides</i> "sangre de grado" al 1,5%	Crema del liofilizado del látex de <i>Croton</i> <i>draconoides</i> "sangre de grado" al 2,0%	Crema de marca conocida "Mucovit"	Solución de <i>Croton</i> <i>lechleri</i> "sangre de grado"
Control I	X							
Control II		X						
Control III			X					
Control IV				X				
Control V					X			
Control VI						X		
Control VII							X	
Control VIII								X

- c. Durante los ensayos de determinación de la actividad cicatrizante hubieron algunos errores los cuales obligaron a disminuir el número de datos en algunos grupos. Por ello, luego de finalizar el estudio para la determinación de la actividad cicatrizante, se tenían grupos con seis datos. Se siguió con los ocho grupos iniciales, de los cuales seis grupos tenían siete datos y los otros dos grupos seis datos.

**Tabla 5. Animales evaluados y datos obtenidos.**

<b>Grupo</b>	<b>Número de animales evaluado</b>	<b>Número de datos obtenidos</b>
Control I	7	7
Control II	7	7
Control III	7	6
Control IV	7	7
Control V	7	7
Control VI	7	6
Control VII	7	7
Control VIII	7	7

Todos los grupos fueron evaluados según el procedimiento descrito para la determinación de la actividad cicatrizante.

## IV RESULTADOS

### 4.1 Taxonomía

Se confirmó la identidad de *Croton draconoides* “sangre de grado”, por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub clase: Dilleniidae

Orden: Euphorbiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: Croton

Especie: *Croton draconoides* Muell Arg

Nombre vulgar: “sangre de grado”

### 4.2 Obtención del látex y del liofilizado

**Tabla 6. Descripción de látex y liofilizado del látex**

<b>Muestra de <i>Croton draconoides</i></b>	<b>peso</b>	<b>Aspecto</b>
Látex	500 g	Resina viscosa de color rojizo, con olor característico.
Látex liofilizado	40 g	Cristales amorfos de color rojizo.

### 4.3 Análisis fisicoquímico del liofilizado del látex de *Croton draconoides*

## Prueba de solubilidad

Tabla 7. Ensayos de solubilidad

Solventes	Calificación	Resultado
Agua destilada	-	Insoluble
Alcohol etílico 96°	++	Poco soluble
Propilenglicol (PEG)	++	Poco soluble
Glicerina	+	Muy poco soluble
Cloroformo	++	Poco soluble
Agua/(PEG)	+	Muy poco soluble
Agua/Glicerina	-	Insoluble
Alcohol/(PEG)	+++	Soluble
Alcohol/Glicerina	+	Muy poco soluble

## Marcha fitoquímica

Tabla 8. Resultados del análisis fitoquímico

Compuestos	Reactivo	Resultado	Calificación*
Compuesto fenólicos y Taninos	Cloruro férrico	Formación de precipitado	++
Aminoácidos	Ninhidrina	Coloración violácea	+
Flavonoides	Shinoda	Coloración rojo intenso	+++
Triterpenos y Esteroides	Liebermann Bruchard	Ninguno	-
Azúcares reductores	Fehling y Tollens	Coloración verde rojiza	+
Alcaloides	Draguendorff	Coloración naranja	+++
Quinonas	Bortrager	Formación de precipitado	+
Compuestos lactónicos y cumarinas	Baljet	Ninguno	-
Antocianidinas	Rosemhein	Ninguno	-

(\*) Calificación: (-) Ninguna; (+) Poca cantidad; (++) Mediana Cantidad; (+++) Mayor cantidad

## Identificación cromatografía de alcaloides

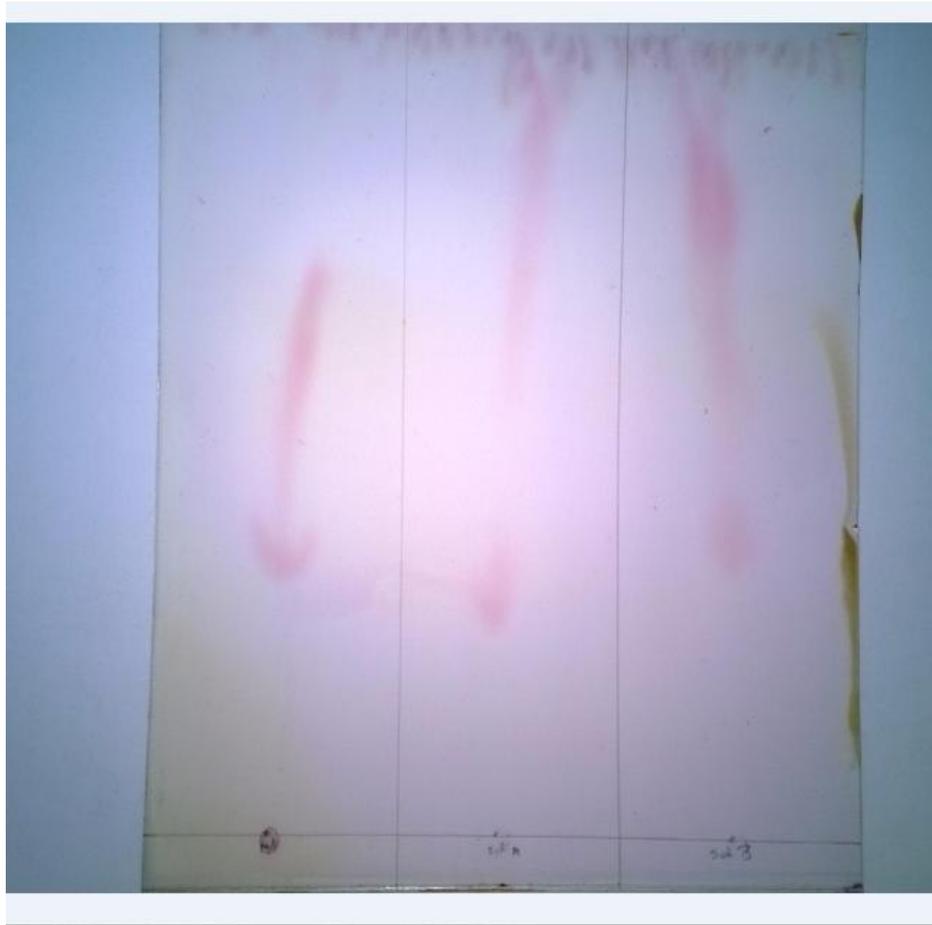


Figura 17. En la cromatografía de capa fina, se resolvieron 3 manchas de color rosáceo, a la izquierda la *Croton lechleri*, en el medio la *Croton palanostigma* y en la derecha de a imagen la *Croton draconoides* que confirman la identificación de alcaloides en el liofilizado del látex.

	ESTÁNDAR ( <i>Croton lechleri</i> )	ESTÁNDAR ( <i>Croton palanostigma</i> )	MUESTRA ( <i>Croton draconoides</i> )
RF	0.458	0.426	0.452

#### Cuantificación volumétrica de alcaloides totales (Taspina)

- Cada mL de ácido perclórico 0.1N equivale a 36.94 mg de  $C_{20}H_{19}NO_6$

$$\% \text{de } \text{aspina} = \frac{(G_m - G_b) \text{mL} \times 36.94 \text{mg} \times F \times 100}{W \text{mg}}$$

$$F = 0.98951$$

$$G_b = 0.05 \text{ mL}$$

Donde:

$G_m$ : Gasto de la muestra problema

$G_b$ : Gasto de blanco

F: Factor de corrección

W: Peso de la muestra

	<b>Gasto de muestra (mL)</b>	<b>Peso de muestra (mg)</b>	<b>Concentración (%)</b>	<b>Concentración mg/g</b>
1	0.75	1002.5	2.55	0.26
2	0.70	1001.9	2.37	0.24

Concentración (%) promedio = 2.46

Concentración (mg/g) promedio = 0.25

Coefficiente de variación del (%) promedio = 5.17

#### 4.4 Determinación de la actividad cicatrizante

**Tabla 9. Fuerza de tensión ejercida por el grupo control, liofilizado del látex de *Croton draconoides*, “Mucovit” y Solución de *Croton lechleri***

# de animales	Fuerza de tensión ejercida (expresada en gramos de arena)							
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V	Grupo VI	Grupo VII	Grupo VIII
1	40.2	42.0	45.2	52.0	62.2	63.8	73.4	68.6
2	38.3	35.5	47.3	57.5	66.4	66.2	71.2	69.2
3	35.6	36.0	41.4	51.1	67.4	62.9	75.0	76.9
4	34.8	40.9	43.2	55.5	66.6	67.1	73.7	70.4
5	32.0	33.9	45.6	54.6	71.3	62.9	75.3	65.6
6	34.6	32.4	44.4	62.9	70.6	61.2	69.8	78.1
7	36.1	35.4	-	53.7	68.1	-	71.6	81.3
Promedio	35.94	36.59	44.52	55.33	67.51	64.02	72.86	72.87
SD	2.66	3.55	2.04	3.96	3.01	2.22	2.05	5.85

**Calculo de la actividad cicatrizante (%)**

**Tabla 10. Comparación de la actividad cicatrizante de la crema del liofilizado del látex de *Croton draconoides*, crema de marca (“Mucovit”) y solución de *Croton lechleri* en relación al grupo control.**

Sustancia aplicada	Actividad cicatrizante %
Crema base	1.81
Crema con liofilizado del látex de <i>Croton draconoides</i> al 0.5%	23.87
Crema con liofilizado del látex de <i>Croton draconoides</i> al 1.0%	53.95
Crema con liofilizado del látex de <i>Croton draconoides</i> al 1.5%	87.8
Crema con liofilizado del látex de <i>Croton draconoides</i> al 2.0%	78.13
Crema de marca (“Mucovit”)	102.73
Solución de sangre de grado (gotas)	102.75

**Tabla 11. Comparación de la actividad cicatrizante de la crema del liofilizado del látex de *Croton draconoides*, crema de marca ("Mucovit") y solución de sangre de grado en relación al grupo con crema base.**

<b>Sustancia aplicada</b>	<b>Actividad cicatrizante %</b>
Crema con liofilizado del látex de <i>Croton draconoides</i> al 0.5%	21.67
Crema con liofilizado del látex de <i>Croton draconoides</i> al 1.0%	51.22
Crema con liofilizado del látex de <i>Croton draconoides</i> al 1.5%	84.50
Crema con liofilizado del látex de <i>Croton draconoides</i> al 2.0%	74.97
Crema de marca ("Mucovit")	99.13
Solución de sangre de grado	99.15

#### 4.5 Análisis estadístico

**Tabla 12. Niveles medios y dispersión de la fuerza de tensión ejercida en los ensayos de determinación de la actividad cicatrizante de las cremas con el liofilizado del látex de *Crotón draconoides*.**

	N	Media	DS	ES	CV	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Grupo I	7	35.9429	2.66074	1.00566	7.40269	33.4821	38.4036	32.00	40.20
Grupo II	7	36.5857	3.54938	1.34154	9.70155	33.3031	39.8683	32.40	42.00
Grupo III	6	44.5167	2.04198	.83363	4.58699	42.3737	46.6596	41.40	47.30
Grupo IV	7	55.3286	3.96262	1.49773	7.16198	51.6638	58.9934	51.10	62.90
Grupo V	7	67.5143	3.01465	1.13943	4.46520	64.7262	70.3024	62.20	71.30
Grupo VI	6	64.0167	2.22478	.90826	3.47532	61.6819	66.3514	61.20	67.10
Grupo VII	7	72.8571	2.05090	.77517	2.81496	70.9604	74.7539	69.80	75.30
Grupo VIII	7	72.8714	5.84970	2.21098	8.02743	67.4614	78.2815	65.60	81.30
Total	54	56.2759	15.09901	2.05471	26.83031	52.1547	60.3972	32.00	81.30

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

La tabla nos indica que el grupo VI (Crema con liofilizado del látex de *Croton draconoides* al 2.0%), nos presenta una mayor confiabilidad de observaciones, según el coeficiente de variación; no obstante el grupo V (Crema con liofilizado del látex de *Croton draconoides* al 1.5%), presentó una mayor tasa promedio.

**Tabla 13. Prueba de homogeneidad de varianzas para determinar si el supuesto de varianza del ANNOVA cumple, para la comparación de las cremas con el grupo control.**

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
2.920	7	46	.013

Donde:

Df1 = Grados de libertad entre grupos.

Df2 = Grados de libertad intra grupos.

Sig = Significancia.

Si el valor en la columna “Sig.” (Significancia) es menor a 0.05, se rechaza el supuesto; si es mayor a 0.05, se acepta el supuesto de que las varianzas son iguales.

En este caso, el valor es menor a 0.05, por lo tanto las varianzas NO son iguales. El supuesto del ANOVA no se cumple. Esto generalmente se debe a que las muestras son muy pequeñas (solo 54 mediciones en este caso). Sin embargo, el ANOVA aún es aplicable si es que los grupos tienen un tamaño igual o muy similar. Como esto último se cumple, el ANOVA aún es válido.

**Tabla 14. Análisis de varianza para contrastar las medias de fuerza obtenidas en los ensayos de determinación de la actividad cicatrizante con Niveles medios y dispersión de la fuerza de tensión ejercida en los ensayos de determinación de la actividad cicatrizante de las cremas con el liofilizado del látex de *crotón draconoides*.**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p
Entre grupos	11539.98	7	1648.57	139.67	,000
Intra grupos	542.96	46	11.80	-	-
Total	12082.94	53	-	-	-

El análisis de varianza (ANOVA) nos muestra diferencias altamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las medias de fuerzas del uso de cremas y la solución.

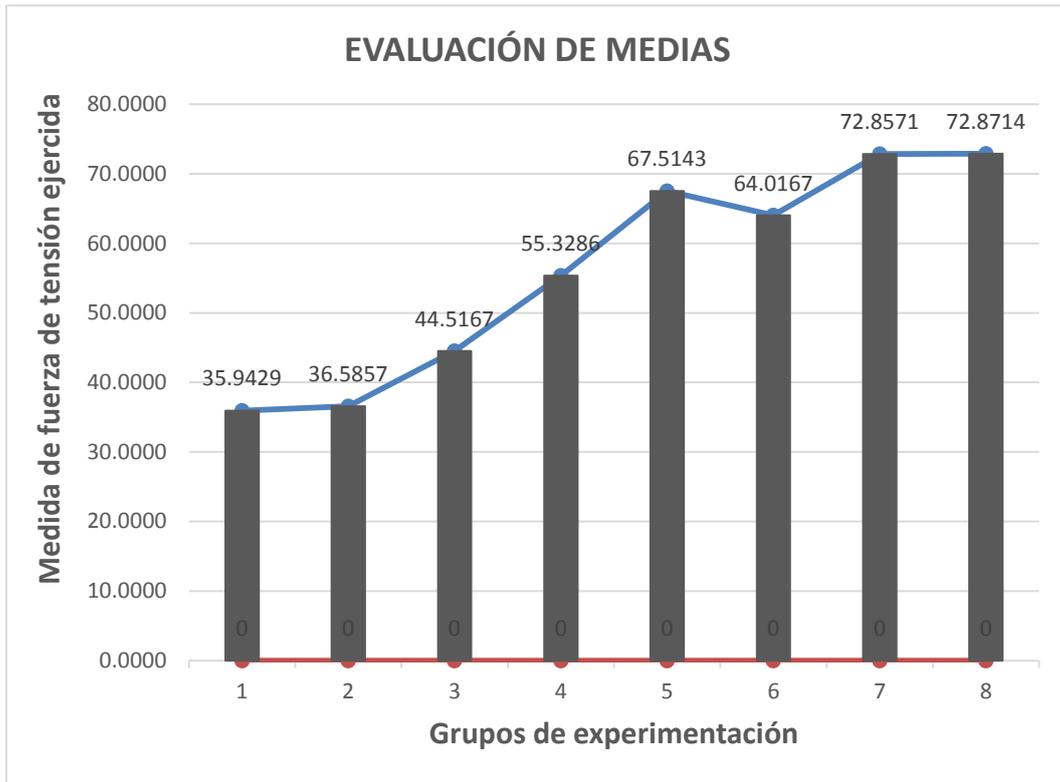
**Tabla 15. Comparación de medias de fuerza de tensión para grupos de cremas y solución frente al grupo control: Prueba de Dunnet (bilateral)<sup>a</sup>**

		Diferencia de medias	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Grupo III	Grupo I	.64286	1.83641	1.000	-4.3507	5.6364
Grupo III	Grupo I	8,57381*	1.91140	.000	3.3764	13.7712
Grupo IV	Grupo I	19,38571*	1.83641	.000	14.3922	24.3792
Grupo V	Grupo I	31,57143*	1.83641	.000	26.5779	36.5650
Grupo VI	Grupo I	28,07381*	1.91140	.000	22.8764	33.2712
Grupo VII	Grupo I	36,91429*	1.83641	.000	31.9208	41.9078
Grupo VIII	Grupo I	36,92857*	1.83641	.000	31.9350	41.9221

\* La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05

Los resultados indican que todos los grupos experimentales tienen diferencias estadísticamente significativas con el grupo control, salvo el grupo tratado con crema base, en cuyo caso la diferencia no es estadísticamente significativa.

**Figura 17. Gráfico de medias**



**Tabla 16. Prueba de homogeneidad de varianzas para determinar si el supuesto de varianza del ANNOVA cumple, para la comparación de las cremas con el grupo de crema base.**

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,209	6	40	,011

Donde:

Df1 = Grados de libertad entre grupos.

Df2 = Grados de libertad intra grupos.

Sig = Significancia.

Si el valor en la columna “Sig.” (Significancia) es menor a 0.05, se rechaza el supuesto; si es mayor a 0.05, se acepta el supuesto de que las varianzas son iguales.

En este caso, el valor es menor a 0.05, por lo tanto las varianzas NO son iguales. El supuesto del ANOVA no se cumple. Esto generalmente se debe a que las muestras son muy pequeñas (solo 47 mediciones en este caso). Sin embargo, el ANOVA aún es aplicable si es que los grupos tienen un tamaño igual o muy similar. Como esto último se cumple, el ANOVA aún es válido.

**Tabla 17. Análisis de varianza para contrastar las medias de fuerza obtenidas entre la crema base y las crema del liofilizado del látex de *Croton draconoides*, crema de marca “Mucovit” y la solución de *Croton lechleri*.**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p
Entre grupos	8214.92	6	1369.15	109.44	<0.05
Intra grupos	500.48	40	12.51	-	-
Total	8715.40	46	-	-	-

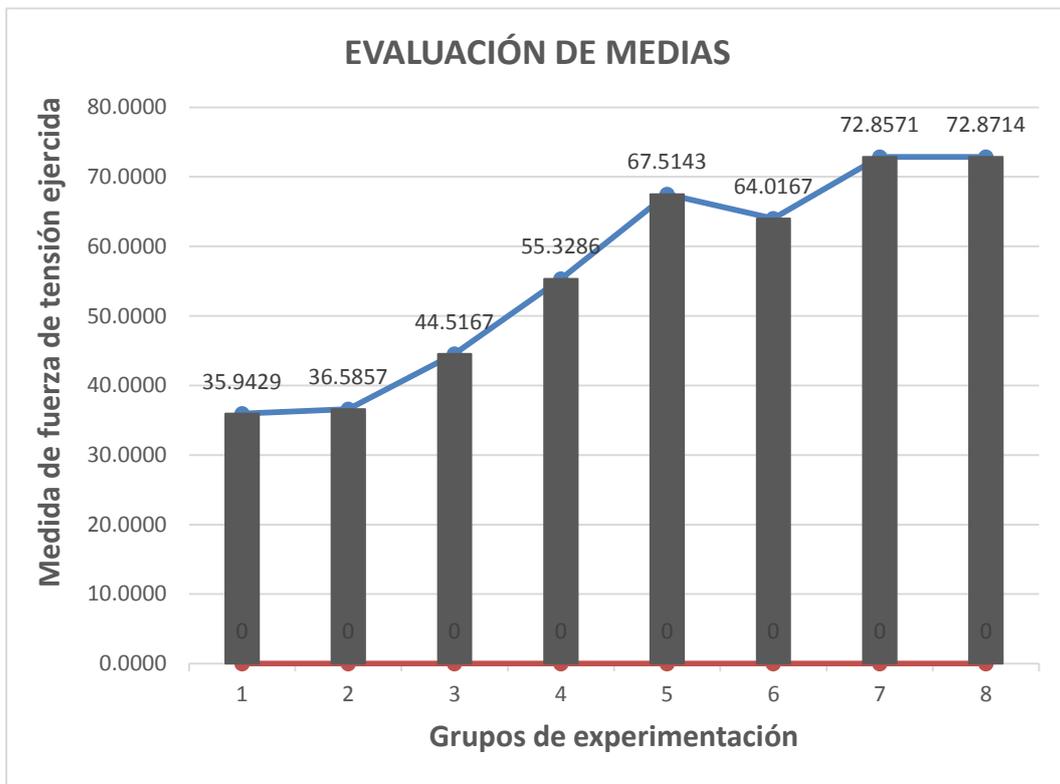
**Tabla 18. Comparación de medias de fuerza de tensión para los grupos con crema del liofilizado del látex de *Croton draconoides*, crema de marca “Mucovit” y solución de *Croton lechleri* frente a la crema base: Prueba de Dunnet. (bilateral)<sup>a</sup>**

		Diferencia de medias	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Grupo III	Grupo II	7,93095*	1,96793	,001	2,6476	13,2143
Grupo IV	Grupo II	18,74286*	1,89073	,000	13,6668	23,8190
Grupo V	Grupo II	30,92857*	1,89073	,000	25,8525	36,0047
Grupo VI	Grupo II	27,43095*	1,96793	,000	22,1476	32,7143
Grupo VII	Grupo II	36,27143*	1,89073	,000	31,1953	41,3475
Grupo VIII	Grupo II	36,28571*	1,89073	,000	31,2096	41,3618

\* La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05

Los resultados indican que todos los grupos experimentales tienen diferencias estadísticamente significativas con el grupo de la crema base.

**Figura 18. Gráfico de medias**



## V DISCUSIÓN

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 la *Croton draconoides* “sangre de grado”, de la cual se sabe, que se usa en la amazonia 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. Sin embargo, no existen estudios sobre los componentes químicos presentes en su resina, así como tampoco de la actividad cicatrizante que también se le atribuye.

Es por ello que se inició una investigación sobre sus atribuciones ya mencionadas. Entre ellos está la solubilidad que nos dio a conocer que la mezcla de un solvente orgánico como el alcohol etílico 96° con el propilenglicol en las mismas cantidades nos presenta una solubilidad para dicha sustancia, no ocurriendo lo mismo con el agua, que es totalmente insoluble. (Tabla 7).

En la marcha fitoquímica, utilizando reactivos de coloración y precipitación (Tabla 8), se detectó la presencia de alcaloides, polifenoles y taninos, etc. Similar al estudio realizado por el Dr. Moron, F<sup>26</sup>, quien junto a un grupo de investigación realizaron una validación preclínica de los extracto fluidos de la especie *Croton argenteus*.

En el análisis por cromatografía de capa fina, se separó e identificó la presencia de compuestos nitrogenados de naturaleza alcaloídica, siendo estos los que expresarían la bioactividad farmacológica cicatrizante que se le atribuye según la medicina tradicional (Tabla 9).

Detectándolos mediante el reactivo revelador, originando un color rosa, asimismo mediante el RF.

En la determinación cuantitativa de los alcaloides totales, valoradas como taspina por método volumétrico, el resultado permitió identificar la cantidad de liofilizado de látex de *Croton draconoides*, usado en la elaboración de las cremas, el cual fue de 2.46%, no obstante siendo un método no tan específico y robusto como una valoración por Cromatografía líquida de alta performance, pero de mayor costo monetario, para realizar dicho análisis.

Tanto para la cromatografía de capa fina y la cuantificación de alcaloides por método volumétrico se utilizó la British Pharmacopeia 2010<sup>24</sup> y la USP 37 (Farmacopea de los Estados Unidos)<sup>25</sup>, y se comparó los resultados de estos ensayos con los análisis realizados para el Control de Calidad de la Sangre de grado en la Pontificia Universidad Católica del Perú<sup>28</sup>, los cuales evidenciaron la presencia de alcaloides mediante el factor de retardo de cromatografía (RF), y cuantificaron la taspina como alcaloides totales entre los valores de 1.64% y 3.24%, asemejándose así al resultado que se obtuvo en el presente trabajo.

Debido a que existen pocos trabajos de investigación sobre la actividad cicatrizante del látex de *Croton draconoides*, la elección de las concentraciones de las cremas usadas en este estudio, fueron al 0.5%, 1.0%, 1.5% y 2.0%, según bibliografía sobre otras especies del género *Croton*, como por ejemplo la del Q.F López,<sup>L7</sup> 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 de este. El proceso de la elaboración de la crema fue establecida en base a las características de solubilidad del liofilizado del látex, cumpliendo los parámetros que exige la USP 37 en sus ensayos de solubilidad. La crema base se desarrolló de forma sencilla utilizando un excipiente común y sencillo como la cera lanette. La prueba de pH de la crema fue conforme a lo esperado

para una forma farmacéutica de uso tópico, ya que debe ser neutro o débilmente ácido.

En la determinación de la actividad cicatrizante de la muestra en estudio, el método de la incisión de la cintura escapular paralelo al eje longitudinal del ratón previamente anestesiado. Se trabajó con las cremas conteniendo las diferentes concentraciones del liofilizado del látex de *Croton draconoides*, comparándolas con un grupo control y un grupo placebo (crema base), demostrando que poseen actividad cicatrizante las cremas, más no la crema base; comprobándose que existe una diferencia significativa (Tabla 9 al 16) en la actividad cicatrizante de los 4 grupos de las cremas con el liofilizado del látex de *Croton draconoides*, la crema de marca “Mucovit” y las solución de *Croton lechleri* “sangre de grado”. El tratamiento a los ratones se desarrolló por un período de 96 horas y se administró las forma farmacéutica dos veces al día.

En el estudio se halló que la crema del liofilizado del látex de *Croton draconoides* al 1.5% posee la mayor actividad cicatrizante, en comparación a las cremas del liofilizado del látex de *Croton draconoides* al 0.5 %, 1.0% y 1.5%, pero tuvo una similitud a las cremas de marca y la solución de *Croton lechleri* (Tabla 9). Asimismo en comparación con la crema del extracto atomizado de *Croton lechleri* al 1.0% que elaboró el Q.F López, L<sup>7</sup>, que nos indica que fue la que obtuvo la mayor actividad cicatrizante después de 48 horas de tratamiento.

Los análisis estadísticos nos indican que las desviaciones estándar relativas halladas en las cremas, son confiables, teniendo como máximo un coeficiente de variación de 9.70%, lo cual puede explicarse por el tamaño reducido de los grupos y del variado número de datos que se tiene para cada grupo (Tabla 9).

Del análisis de varianza realizados y el estudio de levene demuestra que estadísticamente existe significancia por que el tamaño de los grupos son

similares. Por lo que existe una diferencia significativa entre grupos por dosis y respecto al grupo control, indicado en las fuerzas de tensión obtenidas y en los porcentajes de actividad cicatrizante hallados respecto al control. (Tabla 12 y 13). La prueba de Dunnet comprueba las diferencias de todos los grupos respecto al control y a la vez se verifica que la crema base no ejerce efecto cicatrizante al no existir una diferencia significativa respecto al control (Tabla 15 y 18).

## **VI CONCLUSIONES**

1. El látex de *Croton draconoides* “Sangre de grado”, incorporado en una forma farmacéutica (crema), posee actividad cicatrizante.
2. El estudio fitoquímico del liofilizado del látex de *Croton draconoides*, evidencia la presencia de alcaloides.
3. El liofilizado del látex de *Croton draconoides* incorporado en forma de crema mantiene el efecto cicatrizante.
4. La forma farmacéutica diseñada como crema conteniendo el liofilizado del látex de *Croton draconoides* al 1.5%, presenta efecto cicatrizante mayor al efecto observado con respecto a las demás concentraciones; pero menor actividad cicatrizante con relación a la crema de marca “Mucovit” y la solución de *Croton lechleri*.

## VII RECOMENDACIONES

1. Continuar con los estudios de la especie para determinar sus demás actividades farmacológicas.
2. Desarrollar estudios de estabilidad a largo plazo de las formulaciones con liofilizado del látex de *Croton draconoides*, acatando las especificaciones y parámetros que consigna la directiva de Estabilidades vigentes de nuestra Autoridad Sanitaria.
3. Identificar y cuantificar los distintos alcaloides responsables de la actividad cicatrizante, por medio de tecnología más sofisticada.
4. Indagar e investigar sobre las propiedades anticancerígenas y antitumorales de *Croton draconoides*.

## **VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

1. Quevedo, R; Nuñez, L; Moreno, B. Contribución al estudio químico y de bioactividad de dos especies nativas: (*Croton bogotanus* y *Croton funckianus*) Euphorbiaceae. **Scientia et Technica** año XIII. 2007; 33(1): 391-393.
2. León, B; Riina, R; Berry, P. Euphorbiaceae endémicas del Perú. *Revista Peruana de Biología*. 2006; 13(2): 295-301.
3. Rosales, I; Clado, I. Guía de Consultas Diversidad Vegetal. Facena (UNNE) eudicotiledóneas esenciales – Argentina. 2000; 35-45
4. Salatino, A; Faria, M; Negri, G. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). *Sociedad Brasileira de Química*. 2007; 18(1): 11-33.
5. Risco, E; Vila, R; Henriques, A; Cañigual, S. Bases químicas y farmacológicas de la utilización de la sangre de grado. *Revista de Fitoterapia*. 2005; 5(2): 101-114
6. 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 para optar al Título Profesional de químico Farmacéutico. Lima. Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM; 1999.
7. Berry, P; Hipp, A; Wurdack, K; Van, B; Riina, R. Molecular Phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe *crotonae* (Euphorbiaceae sensu stricto) Using its and TRNL – TRNF DNA sequence data. *American Journal of Botany*. 2005; 92(9): 1520-1534.
8. Sandoval, M; Ayala, S; Oré, R; Loli, A; Huáman, O; Valdivieso, R; Béjar, E. Capacidad antioxidante de la sangre de grado (*Croton palanostigma*) sobre la mucosa gástrica, en animales de experimentación. *Anales de la Facultad de Medicina – UNMSM*. 2006; 67(003): 199-205.
9. Gupta, D; Gupta, R; Bleakley, B. Dragon’s blood: Botany, chemistry and therapeutics uses. 2008; 115(3): 361-380.
10. Ayala, S; Rojas, J; Diaz, D; Juárez, J; Delgado, C. Evaluación de la toxicidad vaginal de *Croton lechleri* en conejas. *Anales de la Facultad de Medicina – UNMSM*. 2009; 70(1)

11. Reynel, C; Pennington, T; Pennington, D; Flores, C; Daza, A. Árboles útiles de la Amazonia peruana. 1<sup>era</sup> edición – Perú 2003.
12. Gordillo, M; Espinosa, S. Tricomias foliares de *Croton* sección *Barhamia* (Euphorbiaceae). Instituto de ecología, A.C. México. 2005; 72: 39-51.
13. 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. 2003
14. Puebla, P; Guerreo, M; Correa, S. Flavonoides del Género *Croton*. Revista Colombiana de Ciencias Químicas Farmacéuticas. 2004; 33(1): 77-85.
15. Tirado, N; Carvajal, R; Romero, L. Efectos genotóxicos y antígenotóxicos de la savia de *Croton draconoides*. Facultad de Medicina – UMSA. 200; 8: 71-76.
16. Pieters, L. La “sangre de grado” Una droga tradicional de sudamérica. Constituyentes biológicamente activos. 1<sup>era</sup> edición – Quito, 1998.
17. Sandoval, M; Ayala, S; Oré, M; Valdivieso, L; Loli, R; Ricra, V; Huáman, O. Evaluación de la toxicidad hepática y renal aguda y subaguda del látex de *Croton palanostigma* (sangre de grado) en animales de experimentación. Anales de la Facultad de Medicina – UNMSM. 2005; 66(002): 119-126.
18. León, K; Santiago, J. Propiedades antimicrobianas de películas de quitosano-alcohol polivinílico embebidas en extracto de sangre de grado. Revista Sociedad Química Perú. 2007; 73(3): 158-165.
19. Flore, I. Manejo avanzado de heridas. Revista Mexicana de enfermería cardiológica. 2006; 14(1): 24-28
20. Ramirez, G. Fisiología de la cicatrización cutánea. Revista Facultad de salud – Universidad de Sur colombiana. 2010; 282): 69-78.
21. Valencia, C. Proceso de reparación tisular, aproximaciones terapéuticas. Investigaciones Andinas – Colombia. 2010; 12(20): 85-98.
22. ETHICON Wound Closure Manual. Fundación Dr. Jordi Mas. [internet]. [Consultado 2012 junio 15]. Disponible en: [http://web.intercom.es/jorgemas/Libro\\_Sutura.pdf](http://web.intercom.es/jorgemas/Libro_Sutura.pdf)
23. Benavides, J. Reparación de heridas cutáneas. Revista de la asociación colombiana de dermatología. 2008; 16(1): 29-35.

24. Pharmacopeia europea, 8<sup>va</sup> Edición 2013.
25. Farmacopea de los Estados Unidos de América y Formulario Nacional (USP 37-NF 31). Maryland. The United States Pharmacopeia Convention. 2014.
26. Depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Cremas\_1438.pdf
27. Morón, F; Victoria, M; Morejón, Z; Martínez, M; López, M; Fuentes, V. Validación preclínica de extractos fluidos de *Croton argentus* L. Revista cubana de plantas medicinales. 2006; 11(2).
28. Fabia, H. Caracterización Físico-Química para la determinación de la calidad y rendimiento del látex de sangre de grado (*Croton perpeciosus Croizat*) en la provincia de San Ignacio-Cajamarca. Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero forestal. Lima. Facultad de Ciencias Forestales – UNM; 2011.
29. Cabello, M; Shironoshita, O. Protocolo para el control de calidad de la sangre de grado. Pontificia Universidad Católica del Perú, Departamento de Ciencias, Sección Química. 1998; 12(2): 21-30.
30. HERSIL S.A (S.F). Sangre de Grado / *Croton lechleri*. (en línea). Consultado 16 abr. 2010. Disponible en: <http://www.Hersil.com.pe/Cont3/pdf/sangre.pdf>
31. Baltodano, L; Yaipen, J; Fuertes, C. “Obtención, caracterización y diseño de una forma farmacéutica semisólida (ungüento) a base de quitosano con efecto cicatrizante”. Instituto de investigación de ciencias farmacéuticas y recursos naturales “Juan de Dios Guevara”. Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM.

# ANEXOS



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Integración Nacional y el Descubrimiento de Nuestra Diversidad"

**CONSTANCIA N° 367-USM-2012**

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

La muestra vegetal (Hojas y flores), recibida de **Lucio Henry OBANDO BARRERA**, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Croton draconoides* Muell. Arg.** y tiene la siguiente posición taxonómica según el

## EQUIPO DE TENSION DE HOWES Y COL



