

**UNIVERSIDAD SAN PEDRO**  
**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**  
**PROGRAMA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



**Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las  
hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en  
*ratones. albinos.***

**Tesis Para Obtener el Título de Químico Farmacéutico**

**Autores:**

**Br. Medina Luna Judith Milagros**

**Br. Minaya Pumaricra Rossana de las Nieves**

**Asesor:**

**Mg. León Tello Tania Janeth**

**CHIMBOTE – PERÚ**

**2019**

**i.- Palabras clave**

<b>Tema</b>	Actividad cicatrizante, extracto, Bixa orellana, ratones albinos
<b>Especialidad</b>	Farmacia y Bioquímica

**Keywords**

<b>Subject</b>	Healing activity, extract, Bixa orellana, albino mice
<b>Speciality</b>	Pharmacy and Biochemistry

<b>Línea de Investigación</b>	Recursos Naturales Terapéuticos y Fitoquímica
<b>Área</b>	Ciencias médicas y de salud.
<b>subarea</b>	Medicina básica.
<b>Disciplina</b>	Farmacología y Farmacia

**ii.- Título**

**Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en *ratones albinos***

### **iii. Resumen**

El presente proyecto tuvo como objetivo evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en ratones *albinos*, el estudio fue de tipo analítico, experimental, pre-clínico y desarrolló en los Laboratorios de farmacología, de la Facultad de Medicina Humana, de la Universidad San Pedro. La población estuvo conformada por ratones albinos y la muestra por 36 ratones *mus musculus var. albinus*, divididos en seis grupos de seis ratones cada grupo donde el primero recibió SSF 2 mL/Kg, el 2° sangre de grado, 3° cicatricure y los grupos 4°, 5° y 6° extracto de achiote en concentraciones de 10, 50 y 100% respectivamente, se siguió el método de test de cicatrización, los datos encontrados fueron sometidos al análisis estadístico descriptivo y análisis de varianza utilizándose el programa SPSS ( $p < 0,05$ ). Se pudo evidenciar mayor efecto cicatrizante con el extracto a una concentración del 100% (56.44% de eficacia). Concluyéndose que el extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L “achiote” posee efecto cicatrizante sobre heridas superficiales en *Mus musculus var. albinus*.

**Palabras clave:** Actividad cicatrizante, extracto, *Bixa orellana*, ratones albinos

#### **iv. Abstract**

The objective of this project was to evaluate the healing effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Bixa orellana* L. on superficial wounds in albino mice, the study was of an analytical, experimental, pre-clinical type and was developed in the pharmacology laboratories of the Faculty of Human Medicine, San Pedro University. The population consisted of albino mice and the sample was 36 *mus musculus* var. *albinus*, divided into six groups of six mice each group where the first received SSF 2 mL / Kg, the 2nd blood grade, 3rd cicatricure and the 4th, 5th and 6th Annatto extract at concentrations of 10, 50 and 100% respectively, the healing test method was followed, the data found were subjected to descriptive statistical analysis and analysis of variance using the SPSS program ( $p < 0.05$ ). A greater scarring effect could be evidenced with the extract at a concentration of 100% (56.44% efficacy). It is concluded that the ethanolic extract of the leaves of *Bixa orellana* L "achiote" has a healing effect on superficial wounds in *Mus musculus* var. *albinus*.

**Keywords:** Healing activity, extract, *Bixa orellana*, albino mice

## Indice

	Pág
Palabras clave- Línea de investigación .....	i
Título de la investigación .....	ii
Resumen .....	iii
Abstract .....	iv
Índice .....	v
Introducción .....	1
Antecedentes y fundamentación científica .....	1
Justificación de la investigación .....	7
Problema .....	8
Marco Referencial .....	9
Hipótesis .....	23
Objetivos .....	23
Metodología .....	24
Tipo y Diseño de investigación .....	24
Población – Muestra .....	25
Técnicas e instrumentos de investigación .....	25
Resultados .....	30
Análisis y Discusión .....	33
Conclusiones .....	36
Recomendaciones .....	37
Agradecimientos .....	38
Referencias Bibliográficas .....	39
Anexos .....	45

## **I. Introducción**

### **1.1. Antecedentes y fundamentación científica.**

Guano E, et al (2015), evaluaron la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) en lesión, inducida en ratones (*Mus musculus*)". Para el efecto se utilizó el extracto del vegetal y 24 ratones, asignados en 6 grupos experimentales que son: Grupo B (sin tratamiento), dos grupos control positivo (C y D) tratados con una crema a base (Acetato de Prednisolona 0,5g y Sulfato de Neomicina 0,5g) y Alcohol al 40% respectivamente y tres grupos experimentales (X, Y, y Z) los cuales recibieron extracto de las hojas del vegetal a concentraciones de 25%, 50% y 75%. En la cuantificación de metabolitos secundarios se muestra el contenido de flavonoides totales equivalentes a Quercetina; de 0,799 mg/g materia seca en el extracto hidroalcohólico. El tratamiento se aplicó por vía tópica cada 12 h durante 15 días, se midió el tiempo de cicatrización y longitud de la herida hasta el desprendimiento de la costra. Se comprobó que el extracto al 75% aplicado por vía tópica en las lesiones inducidas ofrece resultados más eficaces y no presenta reacciones adversas a nivel cutáneo.

Escudero J, et al (2013), al evaluar el efecto cicatrizante de una crema a base de romero (*Rosmarinus officinalis*), matico (*Piper aduncum*) y cola de caballo (*Equisetum arvense*) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*)". La

actividad cicatrizante se evaluó a través de la inducción de una herida en la región escapular de 15 ratones previamente rasurados, de 2 cm de largo por 2 mm de profundidad realizados con bisturí, para la posterior aplicación de 5 tratamientos siendo estos: Control (+) = Tratados con Crema Procicar, Control (-) = blancos, Grupos A proporción de 50:30:20 Grupo B proporción 30:50:20, Grupo C proporción de 20:30:50 (Dosificaciones) = Tratados con la crema de extractos fluidos de Romero, Matico y Cola de Caballo, administrados en vía tópica por 2 aplicaciones al día durante 15 días. Se comprobó que la crema Grupo C posee actividad cicatrizante efectiva en un lapso de 10 días debido a la presencia de flavonoides en las tres plantas y taninos en la cola de caballo que al combinarse mejoran la actividad.

Chávez J, León A, et al (2014), realizaron el estudio fitoquímico y comprobación del efecto cicatrizante de *Ullucus tuberosus* Caldas “olluco” en ratones. Para lo cual utilizaron 32 ratones, se empleó el método de Vaisberg y Col. Se depiló en la mitad del tercio superior del lomo de los ratones albinos hembra, cepa / Balbín C53 / CNPB, se agruparon aleatoriamente en 4 grupos de 8 cada uno. 1. Grupo control, 2. Grupo patrón: Cicatrin crema, 3. Grupo Ext-OH del tubérculo olluco y 4. Grupo piel intacta. Al grupo 2 y 3 se realizó el tratamiento por vía tópica cada 12 horas por 7 días se sacrifica al ratón y se procede a evaluar la actividad cicatrizante usando un dinamómetro adaptado. Para el estudio fitoquímico se usó 2 kg de olluco y se macero por 7 días, se filtró y se concentró en el rotavapor, se



lleva a la estufa a 40°C. Para la identificación de aminoácidos, se solubilizo con metanol 20mg de extracto seco de olluco y se realizó el análisis cualitativo, luego se realizó la cromatografía en capa fina, el extracto de Ullucus tuberosus Caldas “Olluco” fue comparado con estándares de aminoácidos Q.P. Resultados: Se observó que el extracto tiene efecto cicatrizante en el lomo de ratones cepa / Balbín / C53. Con el análisis fitoquímico se comprobó la presencia grupo amino libre que indica la presencia de aminoácidos Conclusiones: Se comprobó la actividad cicatrizante del Ullucus tuberosus Caldas “olluco” en animales de experimentación (ratones hembras) cepa / Balbín C53 / CNPB, mediante el análisis fitoquímico y métodos cromatograficos se evidencio la presencia de metabolitos primarios aminoácidos

Gallardo J, Barboza L, et al (2015). Efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de Croton lechleri "Sangre de Drago". Se usaron 15 ratones, se empleó el método de test de cicatrización. Se depiló en la mitad del tercio superior del lomo de los ratones albinos para realizar las incisiones de 1 cm de longitud y aplicar los respectivos geles (0,5%, 1% y 2%), comparándolos con un control negativo y otro positivo (cicatricure® ) por 7 días y Al octavo día del procedimiento, los ratones fueron sacrificados por sobredosis de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal, se midió la fuerza de tensión con un dinamómetro para determinar la cicatrización. Resultados: Se aplicaron pruebas estadísticas: ANOVA OneWay y Prueba de Tukey. Obteniéndose un mayor efecto

cicatrizante con el gel al 2% de látex de *Croton lechleri* "Sangre de Drago". Concluyendo que el gel elaborado al 2% de látex de *Croton lechleri* "Sangre de Drago" presento un mayor efecto cicatrizante.

Ramos N, et al (2012), Composición química, actividad antioxidante in vitro y evaluación cicatrizante in vivo del extracto metanólico de corteza de *brunfelsia grandiflora* D. Don "chiric sanango". El extracto metanólico se obtuvo por maceración de la corteza con metanol; encontrando la presencia de alcaloides de núcleo indólico: Ibogamina, estrictamina, secoaspidodasycarpina, pseudokopsinina, voacangina, hidroxindolenina, ibogaina, voaluteina, voacangina, vincoridina y akuammidina. La actividad antioxidante se realizó por el método de captación del radical 2,2-difenilpicrilhidrazil (DPPH), no demostrando capacidad antioxidante. Para la actividad cicatrizante se elebopró pomada al 1, 2, y 3 g % del extracto. Se trabajó con un grupo control y uno con un ungüento comercial Clorelace®. Se emplearon 36 ratones albinos divididos en seis grupos de seis ratones cada uno. Practicadas las incisiones en el tercio anterior dorsal del lomo, la cicatrización se evaluó utilizando el método tensiométrico, encontrándose una resistencia de tensión media de 137 mL de agua y una eficacia de cicatrización de 59,4 % con la pomada al 3 % del extracto, además de mejor evolución histológica en el proceso de cicatrización. Se evidenció que este desempeño es debido a los componentes químicos de naturaleza alcaloide indólica del extracto metanólico.

Dentro de los grandes avances tecnológicos que se han hecho en la actualidad en medicina, los principales apuntan al manejo y tratamiento de las heridas. Al punto que hoy se conoce como “manejo avanzado de heridas”, no por el hecho de cómo se tratan, sino con que sustancias se realizan dichas curaciones (Arroyo, 2005).

Las heridas acompañan al hombre desde el inicio de su historia, y de acuerdo con el papiro de Smith, los datos más antiguos de la intervención del hombre en el curso de las heridas datan de aproximadamente 5000 años A. C (Ramirez, 2006).

Los extractos vegetales han demostrado poseer efectos terapéuticos gracias a los múltiples metabolitos que contienen, de los cuales los flavonoides constituyen una de las subfamilias de polifenoles naturales a las que la comunidad científica ha dedicado más atención en los últimos años. Sus múltiples propiedades biológicas observadas experimentalmente y su abundancia en la dieta, junto con su presencia en numerosos remedios de la medicina tradicional, los convierten en posibles candidatos a explicar la asociación encontrada entre el consumo de determinados productos de origen vegetal y la prevención de diversas enfermedades inflamatorias, microbianas, alérgicas, cardiovasculares, cancerígenas, neurológicas entre otras. (Manthey, 1998).

Existen estudios epidemiológicos que sostienen que el consumo de fruta fresca y vegetales (fuentes importantes de flavonoides) tiene un efecto protector contra el cáncer, la enfermedad cardíaca, la enfermedad coronaria y la apoplejía, así como un efecto positivo para la salud en general y un aumento de la resistencia frente a diversas enfermedades crónicas (Carhuapoma, 2008).

Los flavonoides comprenden un amplio grupo de compuestos fenólicos que aparecen de forma espontánea en casi todas las plantas superiores, poseen un origen biosintético común y, por ese motivo, posee un mismo elemento estructural básico con diferentes grados de oxidación, dando lugar a los distintos tipos de flavonoides hoy conocidos, como: flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, isoflavonas, neoflavonas, catequinas, antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, diflavonas, entre otras (Lock de Ugaz, 1994).

Los flavonoides, compuestos que además de estar dotados de una baja toxicidad, presentan unas características idóneas para ser considerados como compuestos antiinflamatorios y cicatrizantes, entre ellas: Inhiben distintas enzimas cuya expresión y/o actividad se encuentran incrementadas en los procesos inflamatorios y son compuestos que presentan propiedades antioxidantes (Asad, 2006).

Las hojas *Bixa orellana* se aplicaban como cataplasma para aliviar el dolor de cabeza y la decocción en gárgaras para los males de garganta. Tradicionalmente la pulpa se aplica sobre las quemaduras, para impedir la formación de ampollas y llagas. También se utiliza la semilla como antídoto para el envenenamiento por *Manihot esculenta* (yuca o yuca brava o yuca amarga o yucca agria). Existen referencias de que se usó para evitar las cicatrices que deja la viruela en la epidermis, con magnífico resultado (1908-1910 en Guatemala). (Silva, 1998)

## **1.2. Justificación de la investigación**

Este trabajo permitirá demostrar la efectividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) y de allí su importancia para poderlas estudiar; a la misma vez hacer de conocimiento a la población para que pueda utilizarla en heridas superficiales ya que esta planta muestra una riqueza en principios activos y una amplia actividad terapéutica.

Los curanderos de la Amazonía y las comunidades indígenas lo utilizan en prácticas culturales, la pintura obtenida de las semillas la aplican en la fontanela de los lactantes, mezclada con la resina de “caucho-masha” (*Sapium marmieri*) para protegerlos contra el susto y los espíritus del bosque y de los ríos. Los Matsigenka y los Shipibo-Conibo hacen baños con el “Achiote” para evitar que los deudos de un pariente fallecido “sean cutipados” por los aires del occiso.

Algunos curanderos de la Amazonía peruana colocan el jugo de las hojas frescas exprimidas del Achiote en los ojos, para la inflamación e infección; para la epilepsia, el jugo es utilizado en combinación con doce frutas y tomado dos veces diariamente por cinco días. El achiote es usado por los curanderos como un antídoto para las mordeduras de serpientes y se cree que las semillas son un expectorante, mientras se piensa que las raíces ayudan en la digestión y suprimen la tos. Asimismo, el Achiote tradicionalmente ha sido utilizado para desórdenes de la próstata e inflamaciones internas, hipertensión arterial, colesterol elevado, cistitis, obesidad, insuficiencia renal y para eliminar ácido úrico. Los Cojedes (Venezuela) usan la infusión de las flores para estimular los intestinos, así como también para evitar la flema en los recién nacidos. (Herbario de plantas medicinales, 2009)

### **1.3 Problema**

¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. tendrá efecto cicatrizante sobre heridas superficiales en *ratones albinos*?

## **1.4 Marco Referencial**

### **1.4.1. PIEL.**

La piel es la cubierta externa del cuerpo humano y uno de los órganos más importantes del mismo tanto por tamaño como por sus funciones. La piel separa al organismo del medio ambiente externo y, al mismo tiempo, permite su comunicación con él mismo. Es una envoltura completa sin soluciones de continuidad, ya que en las regiones donde se encuentran los orificios naturales del organismo, la piel se transforma paulatinamente en una mucosa. La piel sana es una barrera contra agresiones mecánicas, químicas, tóxicos, calor, frío, radiaciones ultravioleta y microorganismos patógenos. Además, la piel es esencial para el mantenimiento del equilibrio de fluidos corporales actuando como barrera ante la posible pérdida de agua (pérdida transcutánea de agua), el mantenimiento del equilibrio térmico y la transmisión de una gran cantidad de información externa que accede al organismo por el tacto, la presión, temperatura y receptores del dolor. Es más, prueba de que la piel juega un papel muy importante en nuestra función de relación es que exteriorizamos nuestro estado emocional por la piel: Nos sonrojamos, palidecemos, nuestro pelo se eriza y emanamos olor (feromonas). La piel es un órgano de gran tamaño, el mayor del organismo, ya que tiene una superficie de alrededor de 2 m<sup>2</sup> (depende de la altura y peso de la persona y un peso de 4 kg, lo que supone aproximadamente el 6% del peso corporal total (Martínez y Juárez, 2011)

Desde afuera hacia dentro, se distinguen tres capas de tejido, cuyo origen embriológico es totalmente distinto, perteneciendo cada capa a una capa embriológica diferente:

- a. La epidermis.
- b. La dermis o corion.
- c. El tejido subcutáneo o también denominado hipodermis.

#### **1.4.1.1. EPIDERMIS**

La epidermis es un epitelio plano poliestratificado y queratinizado que cubre la totalidad de la superficie corporal. Es la capa de la piel con mayor número de células y con una dinámica de recambio extraordinariamente grande. Presenta un espesor variable, con un valor medio de 0,1 mm, pudiendo alcanzar en zonas como las plantas de los pies y las palmas de las manos espesores de hasta 1 o 2 mm (Hernández, 2011).

Está normalmente compuesta por cuatro capas diferentes que desde el exterior hacia el interior serían: a. Capa córnea (stratum corneum). b. Capa granular (stratum granulosum). c. Capa de células espinosas (stratum spinosum). d. Capa basal (stratum basale). En aquellas zonas donde se presenta con un mayor grosor, la epidermis tiene cinco capas al contar con la capa lúcida (stratum lucidum), la cual está situada entre la capa córnea y la granular.



a) Las capas de células espinosas y basales están formadas por células vivas que continuamente se reproducen por división mitótica. Estas células ocuparán el espacio de las células erosionadas en la capa córnea y se les llama conjuntamente la capa germinativa.

b) Las otras tres capas constituyen la capa córnea y comprenden a células muertas. En la capa granular, las células sintetizan la queratohialina, la sustancia precursora de la queratina, la cual se acumula en gránulos en el citoplasma dando esta característica la denominación a esta capa. La capa lúcida, que se encuentra normalmente en la parte gruesa de la piel de las palmas de las manos y plantas de los pies, no existe en la piel delgada. Consiste entre tres y cinco filas de células muertas, claras y planas que contienen aún actividad enzimática. El estrato córneo está formado por células aplanadas y restos de células situadas unas sobre otras en forma de tejas y fuertemente empaquetadas, que han perdido núcleo y orgánulos citoplasmáticos quedando compuestas casi exclusivamente por filamentos de queratina agrupados en haces denominados monofilamentos. Está formado por 15 a 20 estratos celulares, de los cuales el último se va perdiendo por descamación. Este proceso de continuo desgaste y reemplazo renueva la totalidad de la capa epidérmica en un periodo aproximado de 30 días, desde que se produce la división celular hasta que la célula cae desprendida de la superficie de la piel (victoria y Tito, 2010).

Se considera que la epidermis está formada por queratinocitos, debido a la capacidad de estas células de sintetizar queratina. Las queratinas son una familia de proteínas estructurales insolubles en agua y con una gran resistencia frente a cambios en el pH y a elevadas temperaturas. También presentan una fuerte resistencia a la degradación enzimática. Globalmente se subdividen en dos grupos, las queratinas duras o  $\alpha$  (alfa) que forman parte del pelo y uñas; y las blandas o  $\beta$  (beta) que son el elemento esencial de la capa córnea. Aunque los queratinocitos constituyen el 80% de las células epidérmicas, también se encuentran otros tipos celulares:

a) Los melanocitos, que suponen alrededor del 10% de las células epidérmicas y que son las células encargadas de la síntesis de melanina, pigmento que da color a la piel y protección frente a los rayos ultravioletas (UV).

b) Las células de Langerhans, que son células provenientes de la médula ósea, emigradas a la piel y que forman parte del sistema inmunitario. Tal como hemos comentado anteriormente una de las funciones que desarrolla la piel es la defensa inmunitaria.

c) Las células de Merkel, son células sensoriales, situadas en el estrato basal y contactan con terminaciones de neuronas sensoriales para transmitir información de tacto (Saavedra, 2012) .

#### **1.4.1.2. DERMIS**

La dermis es la estructura de soporte de la piel y le proporciona resistencia y elasticidad. Está formada básicamente de tejido conectivo fibroelástico. La matriz extracelular contiene una elevada proporción de fibras, no muy compactadas, de colágeno (>75%), elastina y reticulina. Es un tejido vascularizado que sirve de soporte y alimento a la epidermis. Constituye la mayor masa de la piel y su grosor máximo es de unos 5 mm. Histológicamente, se divide en dos capas, que desde el exterior al interior son: a. La capa papilar (stratum papillare). b. La capa reticular (stratum reticulare). La capa papilar recibe ese nombre por la presencia de proyecciones hacia el interior de la epidermis, estas proyecciones se denominan papilas dérmicas y se alternan con los procesos interpapilares de la epidermis. En las papilas se encuentran las asas capilares (sistema circulatorio) que proporcionan los nutrientes a la epidermis avascular. La capa papilar también contiene numerosas terminaciones nerviosas, receptores sensoriales y vasos linfáticos. La capa reticular es más gruesa que la papilar, y recibe ese nombre por el entramado o retícula de las fibras colágenas. Esta estructura es la que proporciona elasticidad y capacidad de adaptación a movimientos y cambios de volumen (Saavedra, 2012) .

### **1.4.1.3. HIPODERMIS**

La dermis se integra con la capa de tejido subcutáneo no teniendo un límite definido. Esta capa está formada de tejido conectivo laxo y muchas de sus fibras se fijan a las de la dermis, formando franjas de anclaje, fijando así la piel a las estructuras subyacentes (fascia, periostio o pericondrio). Si estas franjas de retención están poco desarrolladas, la piel se mueve en su sustrato formando plegamientos. Si están muy desarrolladas o son muy numerosas, como es el caso de la planta de los pies o del cuero cabelludo, la piel es casi inamovible. El espesor de la hipodermis es muy variable dependiendo de la localización, el peso corporal, el sexo o la edad. Está formada por tejido adiposo (de ahí las denominaciones de grasa subcutánea o panículo adiposo) que forma lobulillos separados por tabiques de tejido conectivo, continuación del conectivo de la dermis reticular y por donde discurren vasos y nervios. El tejido subcutáneo sirve de almacén de energía, además de aislante térmico y de protector mecánico frente a golpes (Saavedra, 2012).

## **1.4.2. CICATRIZACIÓN**

### **1.4.2.1. DEFINICIÓN**

La cicatrización es el proceso normal que se presenta en los seres humanos para regenerar el tejido epidérmico y dérmico. Cuando un individuo presenta una herida (ruptura de un tejido intencional o accidental), una serie de eventos

bioquímicos complejos se presenta para reparar el tejido dañado. Estos eventos explicaremos en pasos separados así: Etapa inflamatoria, etapa proliferativa, y fases de remodelación (Saavedra, 2012) .

#### **1.4.2.2. TIPOS DE CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS (Saavedra, 2012).**

Podemos mencionar tres categorías: el cierre primario, el cierre secundario o por segunda intención y el cierre terciario o también llamado primario diferido.

##### **a) CIERRE PRIMARIO**

Es aquel en el cual una herida es cerrada dentro de horas de su producción. Es la manera ideal de tratar una herida; sin embargo, hay algunos factores que contraindican este cierre primario. Básicamente, la posibilidad importante de que la herida se infecte. La infección depende de varios factores entre los que se cuentan el huésped, la concentración bacteriana, la virulencia del germen infectante.

##### **b) CIERRE SECUNDARIO O POR SEGUNDA INTENCION**

La cicatrización secundaria no incluye cierre formal de la herida; la herida cierra espontáneamente por contracción y reepitelización. Como es lógico, estas heridas tardarán más para cicatrizar y la cicatriz será de mayor tamaño y por tanto menos estético. Típicamente, son las heridas con altísima

probabilidad de infección o en las que ya hay una infección establecida (clara presencia de pus, como en los abscesos, la peritonitis).

**c) CIERRE TERCIARIO**

También conocido como cierre primario diferido, incluye desbridamiento inicial de la herida y curaciones por un período extendido en una herida que se deja abierta y luego al tiempo cierre formal generalmente con suturas, u otro mecanismo.

**1.4.2.3. FASES CICATRIZACION (Tamez, 2001).**

**1.4.2.3.1. FASE INFLAMATORIA**

En la fase inflamatoria, las bacterias y detritus son fagocitados y removidos, y numerosos factores son liberados para causar la migración y división de las células que están implicadas en la fase proliferativa. Inicialmente, se presenta coagulación para obtener hemostasia (detención o estancamiento de la hemorragia), y varios factores son liberados para atraer las células que fagocitan el detritus (resultado de la descomposición de una masa sólida en partículas), las bacterias y el tejido dañado y que además liberan factores que inician la fase proliferativa.

#### **1.4.2.3.2. FASE PROLIFERATIVA**

Es caracterizada por angiogénesis, depósito de colágeno, formación de tejido de granulación, epitelización y contracción de la herida. En la angiogénesis, nuevos vasos sanguíneos crecen a partir de las células endoteliales. En la formación de tejido de granulación y fibroplasia, los fibroblastos crecen y forman una nueva matriz extracelular por excretar colágeno y fibronectina, la cual es provisional. Alrededor de dos o tres días luego de que se presenta la herida, los fibroblastos empiezan a ingresar a la herida, incluso antes de que la fase inflamatoria haya terminado completamente.

#### **1.4.2.3.3. FASE DE REMODELACIÓN**

En la maduración y fase de remodelación, el colágeno es remodelado y realineado a lo largo de las líneas de tensión; las células que no se requieren más son removidas por apoptosis. La fase de maduración puede durar un año o más, dependiendo del tamaño de la herida y si esta inicialmente fue cerrada o dejada abierta. Durante la maduración, el colágeno tipo III, que es prevalente durante la proliferación, se degrada gradualmente y a cambio se deposita colágeno tipo I, que es más fuerte. Así, la fuerza tensil de la herida se incrementa a un 50% del tejido normal por los tres meses de la herida y al final alcanza una fuerza tensil hasta un 80% del tejido normal. Como la actividad se reduce, la cicatriz entonces, pierde su apariencia eritematosa ya que los vasos sanguíneos son removidos por apoptosis .

### **1.4.3. MEDICINA TRADICIONAL**

Las heridas fueron probablemente el primer problema médico que enfrentó la raza humana (Padma, 2009). Dentro de los grandes avances tecnológicos que se han hecho en la actualidad en medicina, los principales apuntan al manejo y tratamiento de las heridas. Al punto que hoy se conoce como “manejo avanzado de heridas”, no por el hecho de cómo se tratan, sino con qué se hace (Salem, 2000).

Desde el inicio de la historia, y de acuerdo con el papiro de Smith, los datos más antiguos de la intervención del hombre en el curso de las heridas datan de aproximadamente 5000 años A. C. Según este papiro, el sanador egipcio, aplicaba curaciones compuestas de grasa animal, miel y fibras de algodón. Sin saberlo, estaba aplicando una curación no adherente, antibacteriana, osmótico, enzimática y finalmente absorbente de exudado. A partir del año 2000 comienza una tendencia mundial destinada al conocimiento de la fisiopatología e inmunología involucrada en los eventos celulares y humorales de las heridas, surge aquí el concepto de manejo avanzado de las heridas (Ramírez, 2006).

Desde la antigüedad el ser humano, en su larga lucha contra las fuerzas de la naturaleza, ha encontrado en las plantas, un fiel aliado para el alivio, curación y hasta prevención de sus dolencias (Álvarez, 1999).



Por esto, los pueblos, desde el más primitivo, hasta el más avanzado, han atribuido poderes medicinales a ciertas plantas, haciendo que la medicina y el uso de plantas medicinales sean inseparables, muchas de las hierbas, frutos y árboles utilizados desde hace siglos por nuestros antepasados, han sido la base de la industria farmacéutica (Álvarez, 1999).

El uso medicinal de las plantas nunca ha perdido vigencia, en muchos sectores de la población su uso continúa sin cambios significativos. En otros sectores más evolucionados, se utilizan siguiendo la disciplina científica, tal es el caso de la fitoterapia (uso terapéutico de las plantas) (Álvarez, 1999).

De acuerdo a un estudio basado en entrevistas etnobotánicas llevadas a cabo desde 1996-2000 en Trinidad y Tobago, se halló que la *Bixa orellana* es utilizada para la *Diabetes mellitus* y la ictericia (Lans, 2006). Se podrían mencionar otros usos del Achiote como: astringente, febrífugo, antidisentérico, diurético, afrodisíaco y para el tratamiento de enfermedades venéreas, erisipelas, fiebres intermitentes y otras afecciones. Estas evidencias de uso tradicional han sido un paso preliminar para garantizar la efectividad y la seguridad del Achiote, así como servir de sustento para los ensayos clínicos y como información de sus propiedades terapéuticas. (Alonso, 2004).

#### **1.4.4. *Bixa Orellana* L. (achiote).**

En la actualidad, dentro de los usos medicinales de la *Bixa orellana* podemos mencionar su uso como antídoto contra la *Manihot esculenta* (yuca o yuca brava o yuca amarga): se come el fruto o toma la infusión de fruto y semillas; como antiemético (contra los vómitos de sangre), se recomienda tomar el líquido de las hojas machacadas; como antidiarréico: se toma este líquido o la infusión de las hojas o semillas; como hemostático, contra la hemorroides, contra la angina, contra los abscesos y como cefalálgico se aplica la pasta de las hojas machacadas en la frente y sienes; malestares de la garganta, afecciones respiratorias (tos, bronquitis): se toma la infusión de las hojas y semillas; malestares del hígado: se usan las semillas y el colorante, se sugiere tomar el cocimiento de los cogollos; dolores renales: cocción de las hojas; inflamaciones dérmicas y vaginales: aplicar la maceración acuosa de las hojas; contra la malaria: tomar el cocimiento de la raíz. Asimismo, la *B. orellana* se usa como: cicatrizante, antihipertensivo, cardiotónico, diurético, repelente de insectos, antipirético, depurativo, digestivo, expectorante, sedante, antiséptico vaginal, y para la lepra, hepatitis, quemaduras, acarosis (caracha) y amigdalitis, entre otros( Silva, 1996).

El Achiote, también es conocido por sus usos como: alimento y condimento; colorante de alimentos, de cosméticos, pinturas, ceras y para trabajos de artesanía; como madera, en algunos trabajos de carpintería; para confeccionar la

punta de las flechas (Amahuacas); y como sahumero de las hojas para evitar sueños eróticos (Shipibos). (Brack, 1999).

En el Achiote se han identificado treintaicinco componentes de los cuales acetato de (Z-E)-farnesilo (11,6%), acetato de occidentalol (9,7%), espatulenol (9,6%), ishwarane (9,1%), bixina y norbixina son los mayores constituyentes (Fig. 1). La cantidad total de bixina y norbixina varía significativamente; los valores comunes son de 2-5%, pero el contenido podría alcanzar sobre los 7% del peso seco de las semillas. La bixina es la forma cis- del monometil éster del ácido carotenoide carboxílico, se encuentra en la pulpa que envuelve las semillas, pudiendo llegar hasta un 3% de su peso. Otros constituyentes del Achiote incluyen: acetona, achiotina, ácido tomentósico, carotenoides, un metil éster, trans-bixina, apocarotenoides, y orelina. Además de estos compuestos, el Achiote tiene reportado en su contenido, un cuerpo de terebintinoso y un ácido graso. (Morrison y col., 1991).

En las hojas encontramos: Bixaganeno, ishwarano (aceite esencial) entre otros mono y sesquiterpenos; flavonoides: 7-bisulfato de apigenina, 7- bisulfato de luteolina, 8-bisulfato de hipolaetina, glucósido de apigenina, bisulfato de apigenina, hipolaetina, cosmosiina, entre otros como: flavonas, antocianidinas y sesquiterpenlactonas; carotenoides: bixina, norbixina, orelina,  $\beta$ -caroteno, criptoxantina, metilbixina, zeaxantina, luteína; ácido tomentósico; vitaminas (A,

B, y C); proteínas; azúcares; celulosa; grasas; calcio, fierro y fósforo; diterpenos: farnesilacetona, geraniol, geranil formato, alcaloides (vestigios), ácido gálico (benzenoide) y ácido alfitólico. En las semillas encontramos: carotenoides expresados como provitamina A (1 000 -2 000 U.I./g de semilla seca), entre ellos destacan: bixina, betabixina, metilbixina, norbixina, orelina, zeaxantina,  $\beta$ -caroteno, luteína y criptoxantina; también contienen bixinato de sodio, achiotina, ácido tomentósico, pectinas, proteínas, taninos, y un hidrocarburo sesquiterpénico, ishwarane (esencia floral de las semillas). Las semillas también contienen sílica, potasa, un alto contenido de fósforo y bajo de calcio; un alto contenido de proteínas, el cual incluye niveles adecuados de triptófano y lisina, pero bajos niveles de metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina y treonina. (Ramírez, 2001).

En la actualidad el tratamiento médico es difícil y costoso, lo que ha llevado a la búsqueda constante de nuevas terapias, así los extractos de plantas son actualmente prescritos en muchos países, por todas estas razones la presente investigación se evaluará el efecto protector del extracto hidrolacohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) sobre la cicatrización en ratones albinos .

### **1.5. Hipótesis**

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) al ser administrado por vía tópica posee efecto cicatrizante al ser aplicado sobre heridas superficiales inducidas en *ratones albinos*.

### **1.6. Objetivos**

#### **Objetivo general:**

- Determinar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en ratones albinos.

#### **Objetivos Específicos:**

- Obtener el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L.
- Realizar el estudio fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L.
- Evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Bixa orellana* L.

## **II. METODOLOGÍA**

### **2.1 Tipo y diseño de investigación**

#### **2.1.1 Tipo y diseño de investigación**

- El diseño del estudio es de tipo analítico-experimental, aleatorizado, completo, pre-clínico *in vivo*.

#### **2.1.2 Diseño**

Este diseño experimental utilizó la técnica estadística que permitió identificar y cuantificar las causas de un efecto dentro de un estudio experimental pre clínico *in vitro*. En este diseño se manipuló deliberadamente una o más variables, vinculadas al efecto cicatrizante de *Bixa Orellana* en heridas superficiales en ratones albinos.

<b>Grupos</b>	<b>tratamientos</b>
<b>Grupo I</b>	corte + Solución suero fisiológico
<b>Grupo II</b>	corte + Sangre de grados
<b>Grupo III</b>	corte + cicatricure
<b>Grupo IV</b>	Corte + Extracto 10%
<b>Grupo V</b>	Corte + Extracto 50%
<b>Grupo VI</b>	Corte + Extracto 100%

## 2.2 Población y muestra

### 2.2.1 Población

- Ratones albinos Cepa Balb/C-54
- Hojas de *Bixa orellana* L

### 2.2.2 Muestra

- Ratones albinos Cepa Balb/C-54: 36 unidades
- Hojas de *Bixa orellana* L.: 3 kg

## **2.3. Técnicas e instrumentos de investigación:**

### **2.3.1. Recolección, selección y secado de las muestras vegetales: Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. y estudio fitoquímico.**

#### **2.3.1.1. Colecta de la planta**

Las plantas de *Bixa orellana* L. serán recolectadas durante las mañanas, en el centro poblado de Rinconada, Departamento de Ancash, Provincia del Santa, Distrito Chimbote, durante el mes de junio del 2019.

Latitud: -8.89694

Longitud: -78.5647

Clima: Cálido - Seco

Límites:

- Norte: km 24 Vinzos
- Sur: El castillo
- Oeste: Rio Santa
- Este: Canal Chimbote

#### **2.3.1.2. Obtención del extracto (CYTED 1995).**

Para la preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. serán lavadas y sometidas a deshidratación, a 40 °C en horno



con aire circulante, luego, el material seco será triturado en un molino eléctrico de cuchillas, hasta obtener un polvo fino, y será llevado a maceración con etanol 96°/agua° en proporción 1:1, a temperatura ambiente. Luego de 7 días se filtrará. Dicho filtrado se desecará a 40°C en estufa hasta peso constante. El residuo seco, será denominado extracto hidroalcohólico, el cuál será conservado en frasco de color ámbar a 4°C, luego este residuo servirá para realizar el estudio fitoquímico y ensayo farmacológico, previa reconstitución con agua destilada, utilizando como agente tensoactivo polisorbato de sodio 80° al 3% de la solución a preparar.

#### **2.3.1.3. Estudio fitoquímico (Lock de Ugaz, 1994).**

El estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Bixa orellana* L. (achiote) se realizará en los ambientes de laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, al cual se le practicará las reacciones de Gelatina, tricloruro férrico, Dragendorff, Molisch, NaOH 10%, Vainillin sulfúrico, Liebermann, Shinoda y Ninhidrina; Para determinar cualitativamente la presencia y cantidad de metabolitos secundarios presentes en el extracto, utilizando la siguiente codificación: Ausencia (-), Poca cantidad (+), Regular Cantidad (++), Abundante cantidad (+++).

**2.3.1.4. Determinación del efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L.**

**2.3.1.4.1. Inducción experimental de las heridas superficiales para evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. de en ratones albinos (Vaisberg, 1997).**

Se utilizarán 36 ratones albinos machos de la raza *Mus musculus* cepa Balb/C de 2-3 meses de edad con un peso promedio de  $25 \pm 5$  gramos, provenientes del bioterio del Instituto Nacional de Salud de Lima, alojados en jaulas individuales durante 21 días. Los animales se mantendrán con libre acceso al agua y alimento. Todos los animales serán depilados 24h antes de realizar dos cortes en la región escapular, en un área de  $1\text{cm}^2$ , que incluirá piel y tejido celular subcutáneo.

En la primera fase de la investigación, se aplicará diariamente, por un período de 07 días, el extracto disuelto a las concentraciones de 10, 50 y 100% en las heridas abiertas y bajo el efecto anestésico, con 50 mg/kg de pentobarbital sódico en grupos de seis animales para cada concentración, y se calculará el porcentaje de eficacia de cicatrización usando la fórmula:

$$\text{Porcentaje de eficacia de cicatrización} = \left( \frac{\text{Gramos para abrir cicatriz}}{\text{gramos para abrir piel intacta}} \right) \times 100$$

Se observará el tiempo de aparición, caída de la costra y cicatrización del área durante todo el período experimental. Al finalizar el tratamiento de las dos fases, los animales serán sacrificados mediante sobredosis de anestesia e inmediatamente se realizarán las pruebas de resistencia a la tensión planteada por Vaisberg. En la tercera fase se comparará el efecto cicatrizante de las formulaciones con mejores resultados frente a placebo (solución suero fisiológico) y a los fármacos patrón (cicatricure y sangre de grados), utilizando la prueba de resistencia a la tensión (gramos de arena necesarios para abrir una herida) y un posterior estudio histológico con cortes longitudinales de la piel regenerada. Las muestras de tejido con cicatrices experimentales serán obtenidas inmediatamente a la muerte de los animales, seccionando un área de 1cm<sup>2</sup> que incluirá además parte de la piel sana tomada como referencia para las observaciones histológicas. Dichos fragmentos serán fijados en formol neutro al 10% y procesados para su inclusión en parafina. Las coloraciones se realizarán con hematoxilina -eosina para su observación y evaluación histológica.

#### **2.4. Procesamiento y análisis de la información**

Los datos serán referidos mediante la estadística descriptiva expresada en valores medios  $\pm$  error estándar (EA), límites inferior y superior a un intervalo de confianza del 95%, e inferencialmente por el análisis de varianza y de múltiples comparaciones de Duncan. Los valores serán significativos con una  $p < 0,05$ ; se hará uso del programa estadístico SPSS versión libre.

### III. RESULTADOS

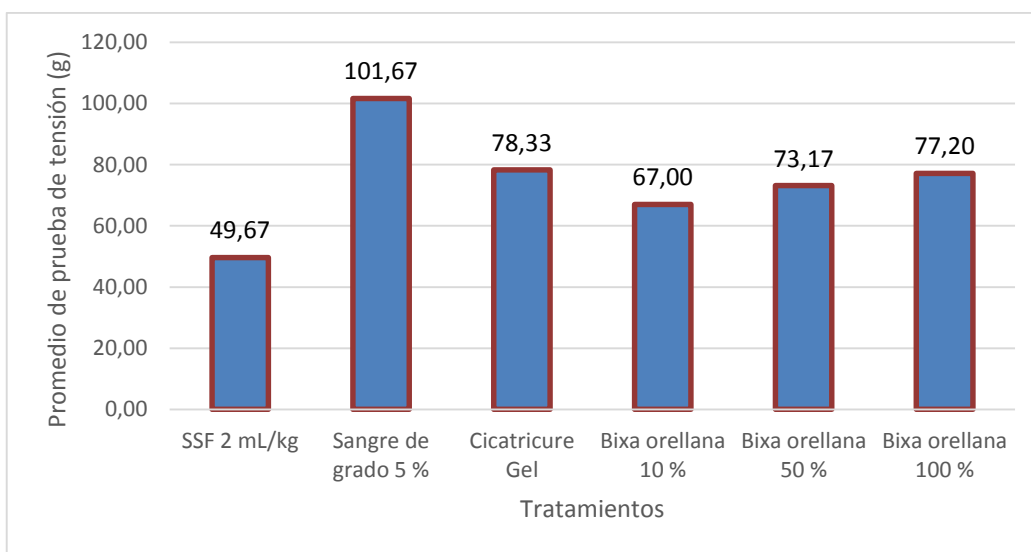
**Tabla 1. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote).**

Metabolito Secundario	Reacción de identificación	Cantidad
Taninos	Gelatina	+++
Aminoácidos libres	Ninhidrina	(-)
Flavonoides	Shinoda	+++
Alcaloides	Dragendorff	++
Compuestos fenólicos	Tricloruro férrico	+++
Esteroides triterpénicos	Lieberman	+
Glicósidos	Vainillin Sulfurico	+

**Leyenda:** (+++) = *Abundante cantidad*; (++)=*Regular cantidad o positivo*, (+)= *Poca cantidad o trazas*; (-)=*Ausencia*.

**Tabla 2. Valores medios de los pesos al evaluar efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en ratones. *albinos***

Tratamientos	Peso de prueba de tensión (g)
SSF 2 mL/kg	49.67
Sangre de grado 5 %	101.67
Cicatricure Gel	78.33
<i>Bixa orellana</i> 10 %	67.00
<i>Bixa orellana</i> 50 %	73.17
<i>Bixa orellana</i> 100 %	77.20

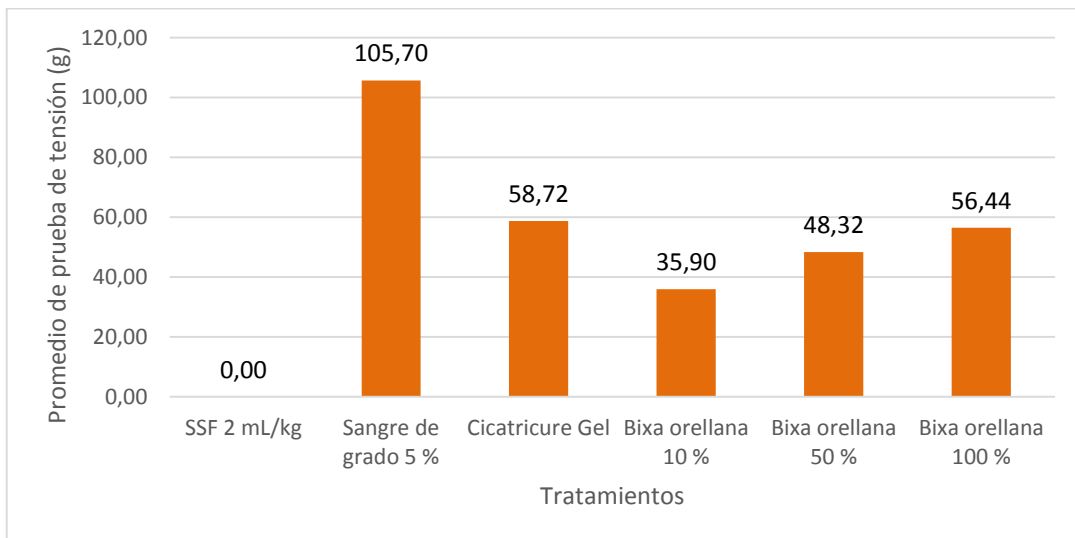


**Figura 1. Valores medios de los pesos al evaluar efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en ratones. *albinos***

**Tabla 3. Porcentaje de cicatrización de los tratamientos al evaluar efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en ratones.**

*Albinos*

Tratamientos	% Cicatrización en relación al control SSF
SSF 2 mL/kg	0.00
Sangre de grado 5 %	105.70
Cicatricure Gel	58.72
<i>Bixa orellana</i> 10 %	35.90
<i>Bixa orellana</i> 50 %	48.32
<i>Bixa orellana</i> 100 %	56.44



**Figura 2. Porcentaje de cicatrización de los tratamientos al evaluar efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en ratones. albino**

#### IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

El estudio fitoquímico realizado al extracto hidroalcohólico de las de *Bixa orellana* L; ha evidenciado abundantes flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, y en ausencia los aminoácidos, y poca cantidad de esteroides triterpenos, Glicósidos y Alcaloides (tabla N° 01).

Referente a la prueba del efecto del extracto hidrolacohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. Tras aplicar el test de cicatrización, se pudo apreciar que la aplicación del extracto a una concentración del 100% se obtiene un mejor efecto cicatrizante muy cercano a cicatricure, pero muy por debajo de sangre de grado (tabla N° 03).

En la figura 2, se observa que el mayor efecto cicatrizante posee sangre de grado (105.7%), seguido de cicatricure al 10% (35.9% efcicacia), al 50% (48.32% eficacia y al 100% (56.44% de eficacia).

Cicatricure® Gel, ayuda a disminuir la inflamación y desvanecer gradualmente las cicatrices, ya sean normales, hipertróficas y queloides. De entre los principales principios activos de Cicatricure® Gel se encuentran los de origen natural como son: Extracto de cebolla (*Allium cepa*), Extracto de manzanilla (*Chamomilla recutita*), Extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*), Extracto de



Concha nácar, Extracto de nogal (*Juglans regia*), Extracto de sábila (*Aloe vera*), Extracto de centella asiática y Aceite esencial de bergamota (*Citrus aurantium bergamia*).

El proceso de cicatrización es la forma en que el cuerpo sana y reemplaza la piel perdida o dañada. Una cicatriz está compuesta normalmente de tejido fibroso. Las cicatrices pueden ser resultado de infecciones, cirugía, lesiones o inflamación del tejido y aparecer en cualquier parte del cuerpo; su composición varía por lo que la apariencia puede ser plana, abultada, hundida o coloreada, como también puede ocurrir que duelan o provoquen picazón. El aspecto final de una cicatriz depende de muchos factores, incluido el tipo de piel, localización en el cuerpo, la dirección de la herida y la edad.

La acción individual y en conjunto de cada uno de sus principios activos de Cicatricure® Gel da como resultado el desvanecimiento gradual de las cicatrices, estimulando la regeneración de la piel mejorando su textura y color.

La Sangre de Drago es un látex de sabor astringente, está compuesta por sustancias diversas como heterósidos, tanino, ácido benzoico, celulosa y resina dragocoresina compuesta por ésteres de alcohol resínicos, ácido benzilacético y alcaloides, entre los que resalta la taspina. (Risco, 2005; Corrales, 2015)

Risco y Corrales, mencionan que una de las actividades más conocidas del látex de la "Sangre de Drago", y de las primeras estudiadas, es la cicatrizante, y en ella está involucrado más de un principio activo, también postulan que la sangre de grado estimula la contracción de la herida, favorece la formación de la cicatriz y regenera rápidamente la piel ayudando a la formación de colágeno, a estas acciones contribuye la taspina, la 3' - 4 - O - Dimetil - cedrusina y los polifenoles (catequinas y proantocianidinas), habiéndose demostrado que el látex total es hasta cuatro veces más efectivo como cicatrizante que sus componentes aislados. (Risco, 2005; Corrales, 2015)

La taspina promueve las fases tempranas de la curación de una herida y su mecanismo de acción podría estar relacionado con la estimulación de la quimiotaxis de fibroblastos; sin embargo, no se ha encontrado actividad en ensayos específicos sobre la quimiotaxis de macrófagos, ni sobre la estimulación de neutrófilos o de la proliferación de fibroblastos. (Risco, 2005; Corrales, 2015)

## V. CONCLUSIONES

Se logró obtener el extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L.

El estudio fitoquímico cualitativo realizado al extracto etanólico de las de *Bixa orellana* L; ha evidenciado abundantes flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, en ausencia aminoácidos, y poca cantidad de esteroides triterpenos, Glicósidos y Alcaloides.

Se logró evaluar el efecto cicatrizante del extracto etanólico de *Bixa orellana* L. encontrándose mejor efecto con una concentración al 100% (56.44 % de eficacia).

En condiciones experimentales se ha demostrado que el extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) al ser administrado por vía tópica posee efecto cicatrizante al ser aplicado sobre heridas superficiales inducidas en *Mus musculus var. albinus*.

## VI. RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio, estimulan a continuar las investigaciones sobre diversos aspectos todavía desconocidos: actividad cicatrizante de los componentes de la *Bixa orellana L.* (achiote), y un posterior estudio histológico con cortes longitudinales de la piel regenerada.

Estudios de esta naturaleza permitirán mejorar el tratamiento, estandarizarlo con el soporte de evidencia científica y difundirlo; experimentando en adaptarlos a preparados magistrales como geles, cremas o ungüentos, haciendo posible con ello ampliar la cantidad de beneficiados, con un producto de bajo costo, sin efectos adversos, elevada efectividad y ampliamente difundido en nuestro territorio ancashino.

Realizar estudios de otras partes aéreas de la planta con el fin de evaluar los metabolitos presentes y sus posibles acciones farmacológicas.

Obtener diversos tipos de extractos utilizando diversos solventes orgánicos con la finalidad de extraer una mayor cantidad de metabolitos polares y apolares de tal manera se pueda evidenciar la acción de otros metabolitos secundarios.

Realizar estudios de seguridad y eficacia de tal manera se pueda realizar trabajos a nivel clínico.

## **VII. AGRADECIMIENTO**

A Dios por sus bendiciones, y haber estado presente como guía en mis momentos difíciles.

A mis familiares por haber depositado en mí toda su confianza y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

A mis docentes de la Escuela de Farmacia y Bioquímica, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión, de manera especial, a mi asesor de tesis quien ha guiado con su paciencia, y su rectitud como docente, y por su valioso aporte para nuestra investigación para lograr mis sueños.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, J. (2004). Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos. Rosario (Argentina): Editorial Corpus. pp 41-45.
- Arroyo, J., Prashad, M., Vásquez, Y., Li, E., Tomas, G. (2005). Actividad citotóxica *in vitro* de la mezcla de *Annona muricata* y *krameria lappacea* sobre células cancerosas de glándula mamaria, pulmón y sistema nervioso central. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública .22 (4): 248
- Asad, S., Singh, S., Ahmad, A., Hadi, S. (2006). Flavonoids: antioxidants in diet and potential anticancer agents. *Medical Science*.
- Álvarez, C., Simó, Y. L., Ortiz T. M., Mañón, D. (1999) ESTUDIO DE SEIS Plantas medicinales dominicanas. May - Jun; 21(3):87.
- Brack, A.; PNUD (1999). Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Cuzco: Centro de Estudios Regionales Andinos “Bartolomé de las Casas” (CBC); p 70-71
- Carhuapoma, M., López, S. (2008). *Maíz Morado Purple Corn Moléculas bioactivas antioxidantes y anticancerígenas*. 1ª Edición. Editorial Concytec, 53– 90.
- Chávez, J., León, A. (2014). Estudio fitoquímico y comprobación del efecto cicatrizante de *Ullucus tuberosus* Caldas “Olluco” en ratones. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener. Lima – Perú.

- Chuqui, D., Saúl, R. (2005). Efecto de la Presión de Trabajo y Coadyuvante de Secado en la Calidad de la Guanábana (*Annona muricata*). Lima-Perú.
- Cronquist, A. (1988). *The evolution and classification of flowering plants*. New York: *The New York Botanical Garden*, 555.
- CYTED. *Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. (1995). Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región.*
- Escudero, J. (2013). Comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de romero (*Rosmarinus officinalis*), MATICO (*Piper aduncum*) y cola de caballo (*Equisetum arvense*) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*). Escuela superior politécnica de chimborazo Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia, Riobamba – Ecuador.
- Gallardo, G. (2015). Efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* "Sangre de Drago". Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica - Universidad Alas Peruanas Filial Huacho. Lima Perú. 2015. *Rev. Cient Cienc Med*; 18(1): 10- 16.
- Guano, G. (2015). Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) en lesión, inducida en ratones (*Mus musculus*). Escuela superior politécnica de chimborazo facultad de ciencias escuela de bioquímica y farmacia, Ecuador.

- Herbario de Plantas Medicinales (2009) Centro Nacional de Salud Intercultural (CENSI) - Instituto Nacional de Salud (INS). Base de datos del Herbario de Plantas Medicinales del CENSI. Lima; CENSI-INS.
- Hernández, F. (2011). Biología de las heridas y proceso de cicatrización, pag 4, 5, 6,7 disponible en:<http://blog.utp.edu.co/cirugia/files/2011/07/biologiadelasheridasyelprocesoedicatrizaciondocumento.pdf>
- Lans CA. Ethnomedicines Used in Trinidad and Tobago for Urinary Problems and Diabetes mellitus. *J Ethnobiol Ethnomed.* 2006 Oct 13; 2:45.
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales.* 2º Edición. Lima: Fondo Editorial PUCP.
- Manthey, J., Grohmann, K., Guthrie, N. (2001). *Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation.* *Curr Med Chem.* 8:135-53.
- Martínez, J., Juárez, M. (2011). Fisiología General. La piel Estructura y función, Disponible en: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/fisiologiageneral/materiales-de-clase-1/bloque-ii/Tema%2011-Bloque%20IIa%20Piel.%20Estructura%20y%20Funciones.pdf>,
- Morrison, E. Y., Thompson, H., Pascoe, K., West, M., Fletcher, C. (1991). Extraction of an Hyperglycaemic Principle from the Annatto (*Bixa orellana*), a Medicinal Plant in the West Indies. *Trop Geogr Med.* 43(1-2):184-8.



- Nayak, B. S., Sandiford, S., Maxwell, A. (2007). Evaluación de la herida actividad cicatrizante del extracto etanolito de *Morinda citrifolia* hoja, basada en la evidencia Complementaria y Medicina alternativa, pp. 78: 1-6.
- Padmaa, M., Paarak, H., Chansouria, J.P., Khosa R.L. (2009). Actividad del extracto de *Annona muricata* L. en curación de Heridas. *Journal of Pharmacy Research*. 2(3):404
- Ramírez, R., Dagnino, B. (2006). Curación de heridas. Antiguos conceptos para aplicar y entender su Manejo avanzado. Curación de heridas. Pp.93
- Ramírez, T. (2001). Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de las Hojas de *Bixa Orellana* “Achiote” [Tesis]. Ayacucho (Perú): Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. p 23-26, 29-31.
- Ramos, N. (2012). Composición química, actividad antioxidante in vitro y evaluación cicatrizante in vivo del extracto metanólico de corteza de *brunfelsia grandiflora* D. Don “chiric sanango. Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica. Unidad de postgrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
- Rengifo, E. (2006). Las ramas floridas del bosque. Memorias 2006, 42-44
- Saavedra, K. (2012). Dermofarmacia, Sustancias despigmentantes y métodos de aclaramiento del color de la piel, ultimo ingreso 1.10.2012 Disponible en: [http://www.dfarmacia.com/farma/ctl\\_servlet?\\_f=37&id=13038004](http://www.dfarmacia.com/farma/ctl_servlet?_f=37&id=13038004).

- Salem, C., Pérez, P. J., Pérez, L.E., Uherek, P.F., y Cool. (2000). Heridas. Conceptos generales, 14:90-99.
- Silva, H., Alvarado, R., Hidalgo, J., Cerruti, T., Dávila, W., Mestanza et al. (1998). Instituto de Medicina Tradicional (IMET)-Instituto Peruano de Seguridad Social (IPSS). *Bixa orellana* L. Monografías de Plantas Medicinales N° 02. Iquitos: IMET-IPSS. p. 12-20
- Solís, J. A., Amador, H. C., Hernández, M. R., Durán de Bazúa, M. C. (2010). Caracterización fisicoquímica y comportamiento térmico del aceite de "almendra" de guanábana (*Annona muricata*, L). Grasas y Aceites. 2010 Ene-Mar, 61 (1): 58.
- Tamez, V. (2001). Estudios de toxicidad dérmica de la t-514 (peroxisomicina ao aislada del genero karwínskia en conejos Nueva Zelanda. Tesis para optar grado de doctorado. Abril, 2001
- Victoria, V., Tito, F. (2010). Cirugía general. Heridas y cicatrización. Trujillo, 2010. Disponible en:  
[http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/libros/Medicina/cirugia/Tomo\\_I/Cap\\_](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/libros/Medicina/cirugia/Tomo_I/Cap_).
- Vieira, O., Glauciemar, V., R. G Jose, Hitomi, Y.C., Alves, M. (2010). Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models. Molecular Science. 2010: 2068.

Villegas L. F., Fernández, I. D., Maldonado, H., Torres R., Zavaleta, A., Vaisverg, A., et al., (1997). Evaluation of the woundhealing activity of selected traditional medicinal plants from Perú. *J. Ethnopharmacol.* 55(3):193-200.

## IX. ANEXOS Y APENDICES

**Anexo 1. Datos obtenidos al evaluar efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en ratones. albinos**

Nro	Tratamientos	Peso según tensión (g)
1	SSF 2 mL/kg	54
2	SSF 2 mL/kg	48
3	SSF 2 mL/kg	45
4	SSF 2 mL/kg	60
5	SSF 2 mL/kg	45
6	SSF 2 mL/kg	46
7	Sangre de grado 5 %	99
8	Sangre de grado 5 %	102
9	Sangre de grado 5 %	111
10	Sangre de grado 5 %	104
11	Sangre de grado 5 %	91
12	Sangre de grado 5 %	103
13	Cicatricure Gel	80
14	Cicatricure Gel	83
15	Cicatricure Gel	78
16	Cicatricure Gel	80
17	Cicatricure Gel	77
18	Cicatricure Gel	72
19	Bixa orellana 10 %	60
20	Bixa orellana 10 %	62
21	Bixa orellana 10 %	69
22	Bixa orellana 10 %	70
23	Bixa orellana 10 %	73
24	Bixa orellana 10 %	68
25	Bixa orellana 50 %	73
26	Bixa orellana 50 %	70
27	Bixa orellana 50 %	75
28	Bixa orellana 50 %	71
29	Bixa orellana 50 %	69
30	Bixa orellana 50 %	81
31	Bixa orellana 100 %	72

32	Bixa orellana 100 %	80
33	Bixa orellana 100 %	76
34	Bixa orellana 100 %	81
35	Bixa orellana 100 %	73
36	Bixa orellana 100 %	76

**Anexo 02. Estadística descriptiva de los datos obtenidos al evaluar efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en *ratones. albinos***

<i>parámetros</i>	SSF 2 mL/kg	Sangre de grado 5 %	Cicatricure Gel	Bixa orellana 10 %	Bixa orellana 50 %	Bixa orellana 100 %
Media	49.6666667	101.666667	78.3333333	67	73.1666667	76.3333333
Error típico	2.48551358	2.67913751	1.5202339	2.03306009	1.79660173	1.47572957
Mediana	47	102.5	79	68.5	72	76
Moda	45	#N/A	80	#N/A	#N/A	76
Desviación estándar	6.08824003	6.56251984	3.72379735	4.97995984	4.40075751	3.61478446
Varianza de la muestra	37.0666667	43.0666667	13.8666667	24.8	19.3666667	13.0666667
Curtosis	0.31782128	1.53114187	1.40139608	1.21943288	1.58949049	1.61260933
Coficiente de asimetría	1.23306476	0.42930727	0.84565248	0.52468359	1.31138431	0.20606981
Rango	15	20	11	13	12	9
Mínimo	45	91	72	60	69	72
Máximo	60	111	83	73	81	81
Suma	298	610	470	402	439	458
Cuenta	6	6	6	6	6	6
Nivel de confianza(95.0%)	6.38921607	6.88694221	3.90788565	5.22614734	4.61831177	3.79348364

**Anexo 03. Análisis de varianza de los datos obtenidos al evaluar efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en *ratones. albinos***

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
SSF 2 mL/kg	6	298	49.6666667	37.0666667
Sangre de grado 5 %	6	610	101.6666667	43.0666667
Cicatricure Gel	6	470	78.3333333	13.8666667
<i>Bixa orellana</i> 10 %	6	402	67	24.8
<i>Bixa orellana</i> 50 %	6	439	73.1666667	19.3666667
<i>Bixa orellana</i> 100 %	6	458	76.3333333	13.0666667

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	8584.13889	5	1716.82778	68.1130703	1.8405E-15	2.53355455
Dentro de los grupos	756.166667	30	25.2055556			
Total	9340.30556	35				