



**UNID**

**UNIVERSIDAD INTERAMERICANA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

EFFECTO CICATRIZANTE DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer  
(COPAIBA) EN RATONES ALBINOS

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

**AUTORES**

BACH. GLADIS DÍAZ DÍAZ

BACH. EDGAR QUISPE CRISPIN

**ASESOR**

Dr. NESQUEN JOSÉ TASAYCO YATACO

**Lima Perú**

**2019**

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo lo dedicamos a Dios, por ser el inspirador y darnos fuerza y sabiduría para continuar en este proceso pese a algunos pormenores en el camino se culminó satisfactoriamente, a nuestros padres, y familiares que nos brindaron su apoyo incondicional.

Diaz Diaz Gladis  
Quispe Crispin Edgar

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a nuestro asesor Dr. Nesquen José Tasayco Yataco, profesores, compañeros que compartieron sus conocimientos para culminar el proyecto con éxitos y a la Universidad Interamericana Para El Desarrollo que nos abrieron las puertas para el desarrollo y elaboración de nuestra tesis.

Diaz Diaz Gladis  
Quispe Crispin Edgar

## RESUMEN

*Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) planta medicinal útil en el tratamiento de cistitis, gonorrea, incontinencia urinaria; infección de mucosa y piel. Objetivo. Comprobar el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) (GEHHCP) en ratones albinos. Métodos. Se usó hojas deshidratadas y pulverizadas de Copaiba, se maceró en etanol 70%, se realizó prueba de solubilidad, marcha fitoquímica y se elaboró gel al 5, 10 y 15%. Se usó 30 ratones albinos, peso entre 25 a 30 g, fueron separados al azar en 5 grupos, por vía tópica recibieron los tratamientos; I) Control gel base, II) GEHHCP 5%, III) GEHHCP 10%, IV) GEHHCP 15%, VI) Cicatricure®. El efecto cicatrizante se valoró mediante prueba tensiométrica y cortes histológicos. Resultados. El extracto de hojas de Copaiba fue muy soluble en metanol, soluble en acetato de etilo, acetona poco soluble en etanol, fue insoluble en agua. Se identificó compuestos fenólicos, leucoantocianidinas, alcaloides, taninos y flavonoides. El efecto cicatrizante fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) con el GEHHCP al 15% (88%) comparado con el grupo control, gel al 10% (40%) y gel al 5% (16%), el efecto fue dependiente de la concentración. Comparado con el Cicatricure® el efecto fue similar ( $p > 0.05$ ). En el estudio histológico se observó leve angiogénesis, moderado fibrosis y disminución de la inflamación. Conclusión. El gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) tuvo efecto cicatrizante en ratones albinos corroborado mediante prueba tensiométrica y estudios histológicos.

**Palabras clave.** *Copaifera paupera*, copaiba, heridas, cicatrizante

## ABSTRACT

*Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) medicinal plant useful in the treatment of cystitis, gonorrhoea, urinary incontinence; mucosal and skin infection. Objective. Check the healing effect of the gel made from the hydroalcoholic extract of *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) (GEHHCP) leaves in albino mice. Methods Dehydrated and powdered Copaiba leaves were used, macerated in 70% ethanol, solubility test, phytochemical gait was performed and 5, 10 and 15% gel was made. 30 albino mice were used, weighing between 25 and 30 g, were randomly separated into 5 groups, topically received the treatments; I) Base gel control, II) GEHHCP 5%, III) GEHHCP 10%, IV) GEHHCP 15%, VI) Cicatricure®. The healing effect was assessed by tensiometric test and histological cuts. Results Copaiba leaf extract was very soluble in methanol, soluble in ethyl acetate, acetone poorly soluble in ethanol, was insoluble in water. Phenolic compounds, leucoanthocyanidins, alkaloids, tannins and flavonoids were identified. The healing effect was significantly greater ( $p < 0.05$ ) with 15% GEHHCP (88%) compared to the control group, 10% gel (40%) and 5% gel (16%), the effect was dependent on concentration. Compared to Cicatricure® the effect was similar ( $p > 0.05$ ). In the histological study, mild angiogenesis, moderate fibrosis and decreased inflammation were observed. Conclusion. The gel made from the hydroalcoholic extract of *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) leaves had a healing effect in albino mice corroborated by tensiometric testing and histological studies.

**Keywords.** *Copaifera paupera*, copaiba, wounds, healing

## Índice General

<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iii
<b>RESUMEN</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
Índice de tablas.....	viii
Índice de figuras.....	ix
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I</b> .....	2
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	2
<b>1.1. Descripción de la realidad problemática</b> .....	2
<b>1.2. Formulación del problema</b> .....	3
<b>1.2.1. Problema general</b> .....	3
<b>1.2.2. Problemas específicos</b> .....	3
<b>1.3. Objetivos</b> .....	3
<b>1.3.1. Objetivo general</b> .....	3
<b>1.3.2. Objetivos específicos</b> .....	3
<b>1.4. Justificación</b> .....	4
<b>CAPÍTULO II</b> .....	5
<b>FUNDAMENTOS TEÓRICOS</b> .....	5
<b>2.1. Antecedentes</b> .....	5
<b>2.1.1 Nacionales</b> .....	5
<b>2.1.2. Internacionales</b> .....	7
<b>2.2. Bases teóricas</b> .....	8
<b>2.3. Marco conceptual</b> .....	15
<b>2.4. Hipótesis y variables</b> .....	16
<b>2.4.1. Hipótesis general</b> .....	16
<b>2.4.2. Hipótesis específicas</b> .....	16
<b>2.4.3. Operacionalización de variables e indicadores</b> .....	17
<b>CAPÍTULO III</b> .....	18
<b>METODOLOGÍA</b> .....	18
<b>3.1. Tipo y diseño de investigación</b> .....	18
<b>3.2. Descripción del método y diseño</b> .....	18

3.2.1.	Recolección de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) .....	18
3.2.2.	Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) (Método CYTEC. 1995) .....	18
3.2.3.	Prueba de solubilidad y tamizaje fitoquímico. Método Lock (2016). .....	19
3.2.4.	Determinación del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel. Método Vargas (2007).....	20
3.2.5.	Materiales, equipos y reactivos .....	20
3.3.	Población y muestra.....	22
3.4.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	23
3.5.	Técnicas de procesamiento y análisis de datos .....	23
<b>CAPÍTULO IV .....</b>		<b>24</b>
<b>PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....</b>		<b>24</b>
4.1.	Presentación de resultados .....	24
4.2.	Prueba de hipótesis .....	31
4.2.1.	Hipótesis general .....	31
4.2.2.	Hipótesis específicas.....	32
4.3.	Discusión.....	34
<b>CAPÍTULO V.....</b>		<b>36</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>		<b>36</b>
5.1.	Conclusiones .....	36
5.2.	Recomendaciones .....	36
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>		<b>37</b>
<b>ANEXOS.....</b>		<b>43</b>
<b>Anexo A.</b> Matriz de consistencia .....		<b>43</b>
<b>Anexo B.</b> Instrumento de recolección de datos para medir la tensión del efecto cicatrizante del GEHHCP. en ratones albinos .....		<b>44</b>
<b>Anexo C.</b> Datos de prueba de tensión de apertura de herida .....		<b>47</b>
<b>Anexo D.</b> cronograma del programa experimental.....		<b>48</b>
<b>Anexo E.</b> Testimonios fotográficos del efecto cicatrizante de hojas de Copaiba .....		<b>49</b>
<b>Anexo F:</b> juicio de expertos .....		<b>55</b>
<b>Anexo G:</b> constancia de taxonomía de copaiba.....		<b>56</b>
<b>Anexo H:</b> certificado sanitario de ratones albinos.....		<b>56</b>

## Índice de tablas

Tabla 1	Operacionalización de las variables .....	17
Tabla 2	Reactivos de marcha fitoquímica .....	19
Tabla 3	Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr ( <i>Copaiba</i> ) .....	24
Tabla 4	Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr ( <i>Copaiba</i> ) .....	25
Tabla 5	Promedio de tensión de apertura de herida en el efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr ( <i>Copaiba</i> ) .....	26
Tabla 6	Análisis ANOVA del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr ( <i>Copaiba</i> ) .....	27
Tabla 7	Indicadores de evaluación del estudio histológico del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr ( <i>Copaiba</i> ) .....	28
Tabla 8	Análisis de Duncan de los grupos de tratamiento en el ensayo de efecto cicatrizante .....	31
Tabla 9	Comparaciones múltiples según test de Tukey de los grupos de tratamiento en el ensayo de efecto cicatrizante .....	32

## Índice de figuras

Figura 1:	Zonas donde se encuentra especies de Copaiba. Fuente. Veiga (2002).....	9
Figura 2:	Principales componentes químicos de <i>Copaiba</i> que se observa las diferentes estructuras de los componentes .....	10
Figura 3:	Capas de la piel es esta figura se observa las capas de la piel .....	13
Figura 4.	Solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) .....	24
Figura 5.	Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) .....	26
Figura 6.	Porcentaje del efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) .....	27
Figura 7.	Histología de piel del grupo control gel base .....	29
Figura 8.	Histología de piel del grupo GEHHCP 5% .....	29
Figura 9.	Histología de piel del grupo GEHHCP 10% .....	29
Figura 10.	Histología de piel del grupo GEHHCP 15% .....	30
Figura 11.	Histología de piel del grupo GEHHCP 15% .....	30
Figura 12.	Recolección de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) en la ciudad de Yurimaguas .....	49
Figura 13.	Ratones albinos inducidos a heridas para evaluar el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba).....	49
Figura 14.	Elaboración del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba).....	50
Figura 15.	Aplicación de los tratamientos para evaluar el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) .....	50
Figura 16.	Prueba de tensión de apertura de herida en el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) .....	51

Figura 17.	Obtención de muestras de piel para estudio histológico en el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) .....	51
Figura 18.	Estudios estológicos de la piel. ....	52
Figura 19.	Estudios estológicos de la piel. ....	53
Figura 20.	Estudios estológicos de la piel. ....	54

## INTRODUCCIÓN

Las heridas se definen como interrupción en la continuidad del revestimiento del epitelio de la piel o mucosa causado por problema físico, químico o térmico. Dhivya (2015). La cicatrización de herida es un proceso biológico complejo que conlleva a la restauración de la integridad del tejido y desde el punto de vista fisiológico se divide en cuatro fases; hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación del tejido. Sing (2017).

Por su complejidad, tratar las heridas es un desafío, especialmente en pacientes con enfermedades crónicas como diabetes mellitus, presencia de bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, complicaciones que incluyen úlceras venosas de las piernas, úlceras en pies de pacientes diabéticos, en este contexto se requiere de nuevas terapias, la medicina tradicional ha abierto nuevas vías de desarrollo basados en la etnofarmacología. Suárez (2018). Se estima que en el mundo existe entre 750,000 y 1,000,000 de especies de plantas, de las cuales se aprovecha sus sustancias activas y se emplean usualmente para tratar enfermedades crónicas que incluyen enfermedades del hígado, cáncer, asma, afecciones reumatológicas entre otros. Cumali (2018).

El *Copaifera* es un género que incluye al menos 72 especies en todo el mundo, se distribuye en América Central y del Sur, sólo en Brasil se ha ubicado 16 especies, puede crecer unos 40 m de altura y vivir en promedio 400 años. Da Silva (2018). Del tronco producen exudados o aceite, es un líquido transparente, amarillo o marrón claro, las propiedades medicinales populares incluyen antiinflamatorio, antitumoral, antiséptico, antihemorrágico, analgésico y cicatrizante. Das (2008).

En este estudio se evaluó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) elaborado en forma de gel (5%, 10% y 15%) aplicados en ratones albinos inducidos a heridas, luego de aplicar la metodología experimental se comprobó el efecto cicatrizante mediante la prueba tensiométrica de apertura de heridas y estudios histológico.

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1. Descripción de la realidad problemática

Las estimaciones para el tratamiento de las heridas agudas y crónicas varían entre 28.1 mil millones hasta 96.8 mil millones de dólares, los gastos más altos corresponden a heridas quirúrgicas, seguidas de diabetes, úlceras del pie con mayor tendencia en pacientes ambulatorios, factores como el envejecimiento, infecciones difíciles de tratar, aumento de diabetes y obesidad en todo el mundo hacen que las heridas crónicas constituyan un verdadero desafío clínico, social y económico en los sistemas de salud. Chandan (2019). Los factores que interfieren en la cicatrización de las heridas deben abordarse de manera holística como el ambiente en que se desarrolla la herida que incluye infección, tejido necrótico y suministro vascular, además coexistencia física y factores psicológicos como el estado nutricional, estado de la enfermedad (diabetes, cáncer, artritis, otros) y los problemas de salud mental pueden afectar la curación de heridas. Orsted (2018).

Regenerar una piel sana sigue siendo un desafío debido a su estructura multicapa y presencia de diversos tipos de células en la matriz extracelular, las terapias tradicionales basadas en compuestos de origen natural son alternativas importantes para curación de heridas, ofrecen nuevas posibilidades de tratamiento y mejorar el acceso a la asistencia sanitaria que permite superar algunas limitaciones como los altos costos, tiempos prolongados y aumento de resistencia bacteriana. La eficacia clínica de estos compuestos se investiga mediante ensayos in vitro e in vivo en modelos animales y humanos, además de nuevos métodos de extracción, purificación, control de calidad, protocolos de tratamiento y los efectos adversos que estos puedan ocasionar. Bartolo (2015).

El Perú es un país rico en biodiversidad biológica vegetal, existen al menos 25000 especies vegetales distribuidas principalmente en los valles interandinos y zonas tropicales de nuestro País. Guevara (2017). Tradicionalmente especies del género *Copaifera* son conocidas como copaiba y se emplean para el tratamiento de diversas enfermedades, antimicrobiano, antiulcerosos, antiinflamatorio y cicatrizante de lesiones de piel. Almora (2015). Con el presente estudio de investigación se pretende

contribuir al área de los fitofármacos, al demostrar en el tratamiento de heridas el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (copaiba), proponiendo una nueva alternativa de farmacoterapéutica.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

- a. ¿El extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) preparado en forma de gel tendrá efecto cicatrizante en ratones albinos?

### **1.2.2. Problemas específicos**

- a. ¿Qué concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) preparado en forma de gel tendrá mejor efecto cicatrizante en ratones albino?
- b. ¿Tendrá efecto cicatrizante el extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) preparado en forma de gel en forma significativa respecto al Cicatricure® en ratones albinos?

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1. Objetivo general**

- a. Comprobar el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) en ratones albinos

### **1.3.2. Objetivos específicos**

- a. Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) preparado en forma de gel con mayor efecto cicatrizante en ratones albinos
- b. Determinar si el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) preparado en forma de gel es significativo respecto al Cicatricure® en ratones albinos

#### **1.4. Justificación**

Los beneficios que posee la planta *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) aún no han sido identificados del todo en nuestro país, dichas propiedades están registradas desde los tiempos más antiguos de la medicina tradicional. Por ello se requiere evaluar sus propiedades para lograr validar el conocimiento tradicional con nuevos conocimientos científicos y poder aportar en la terapéutica farmacológica de enfermedades que afecta a los humanos en nuestro caso sobre la curación de heridas. Las lesiones de la piel son muy frecuentes sobre todo en la población urbana y esto requiere de forma especial un tratamiento adecuado para su pronta recuperación. El margen de atención en la salud es muy bajo en zonas urbanas, las personas con lesiones frecuentes de la piel siempre han mostrado una preocupación por su salud y problemas de retardo de cicatrización de heridas, por ello se trata de buscar respuesta satisfactoria en el menor tiempo posible y con reducidas reacciones adversas. Ibazeta (2018). Es importante resaltar, que en la actualidad existe poco conocimiento en el Perú, para el aprovechamiento de la planta de Copaiba en la elaboración de un producto natural con propiedades cicatrizantes para las heridas.

## CAPÍTULO II

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS

#### 2.1. Antecedentes

##### 2.1.1 Nacionales

**Almora et al (2014). Peru.** En su estudio “Efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera officinalis* (copaiba), en personas con úlcera péptica”, el efecto cicatrizante del aceite de copaiba se comparó con Omeprazol 20 mg, en personas con diagnóstico de úlcera péptica, se realizaron estudios clínico fase II, aleatorios, doble ciego, grupo paralelo, en el Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Participaron personas con diagnóstico de úlcera péptica diagnosticado con técnica de endoscopia de elección, con evaluación pre y post tratamiento con aceite de copaiba, formulada en cápsulas de 80 mg y 120 mg. En el ensayo clínico incluyeron 60 personas de selección aleatoria en tres grupos paralelos, de 20 casos cada uno, según orden de llegada; los dos primeros grupos recibieron cápsulas de aceite de copaiba, en dosis de 80 y 120 mg, respectivamente; y un tercer grupo recibió Omeprazol 20 mg. Los tratamientos fueron administrados en ayunas, 30 minutos antes de la ingesta del primer alimento. El porcentaje de cicatrización es 65% y 75% de la úlcera péptica con aceite de copaiba, respectivamente, contra 100% en el grupo de Omeprazol, sin efectos adversos significativos; dos presentaron náuseas y tres epigastralgias. Concluyen que las cápsulas de aceite de Copaiba tienen efecto cicatrizante en úlcera péptica y sin efectos adversos significativos.

**Yaringaño (2015).Perú.** En su estudio “Formulación de una crema dermocosmética a base de *Mauritia flexuosa* LF y *Copaifera reticulada* var. *Peruviana* con efectos regenerador de la piel lesionada en ratones de la cepa *Mus musculus* BALB/c”. Realizaron evaluaciones fisicoquímicas de la oleorresina de Copaiba y aceite de aguaje posteriormente, elaboraron crema en tres concentraciones a base de aceite de *Mauritia flexuosa* LF (aguaje), una concentración de crema a base de oleorresina de *Copaifera reticulada* var. *Peruviana* (Copaiba) y una mezcla de ambas, en las cuales se realizaron estudios de estabilidad a temperatura de 40°C y 5°C por 120 días con un parámetro de análisis organolépticos: olor, color y aspecto, parámetros

fisicoquímicos, viscosidad y pH, análisis microbiológico total, regeneración de la piel dañada mediante las cremas dermocosmética se evaluaron por método tensiómetro y corroborando con estudios histológicos. Se emplearon ratones de la cepa *Mus musculus* BALB/c de 33 g de peso corporal. El tratamiento fue con cremas dermocosméticas con aguaje 8%, Copaiba 10% y una mezcla de ambos a las mismas concentraciones, los resultados se compararon el grupo control y grupo tratado con crema comercial Cicalfate®. Se observó mayor efecto regenerador de la piel con la crema dermocosmética.

**Sanizo, et al. (2016).** Perú, En su estudio “efecto clínico de *Copaifera paupera* en la recuperación de la mucosa alveolar post exodoncia” con una prueba no probabilística de 37 personas para el grupo control y 38 personas para el grupo experimental, se aplicaron 3 gotas de *Copaifera paupera* y se realizaron controles a las 7, 15 y 21 días. Encontrando una recuperación favorable en el grupo experimental, el 100% de las personas con aspecto adecuado, el 97.4% mostraron una coloración rosado coral, 2.6% fue rojizo. El 94.7% de las personas experimentales presentaba consistencia firme y resiliente, en un 5.7% fue de consistencia blanda; el 100% de los pacientes no mostraron sangrado. De manera general el 94.7% presentaron una buena cicatrización, 5.3% una cicatrización favorable, y el 0% no presenta cicatrización. Los efectos de la aplicación de *Copaifera paupera* son positivos, en cuanto a sus propiedades curativas, cicatrizantes, antiinflamatorias y antibacteriano permitieron la recuperación de la mucosa alveolar de los pacientes que acuden al Policlínico Essalud de Juliaca.

**Herrera et al. (2015).** Perú, En su estudio “efecto protector de la resina de *Copaifera officinalis* (copaiba) en lesiones gástricas inducidas por indometacina en *Rattus rattus var albinus* en la ciudad de Cajamarca”. El diseño del trabajo fue de tipo experimental, al azar se formaron grupos, cada grupo recibió los siguientes tratamientos: I) NaCl 0.9%, II) Ranitidina 50 mg/Kg, III) Copaiba 2 mL/kg y IV) Copaiba 4 mL/Kg. Reportaron que el la inhibición fue 51% y 77% con dosis de 2 mL/kg y 4 mL/kg de aceite de Copaiba respectivamente. Concluyen que la dosis de 4 mL/kg de aceite de Copaiba presentó mayor efecto protector frente a lesiones gástricas.

### 2.1.2. Internacionales

**Batista, et al. (2014). Brasil** En su estudio “Influencia del aceite de Copaiba (*Copaifera sp.*) En el tratamiento de herida cutánea” el efecto cicatrizante de aceite de Copaiba, en la herida infectada. se demostró que el aceite de resina de copaiba como recubrimiento primario sobre el área infectada e inflamada redujeron el edema local y la exudación purulenta, resultante de proceso infeccioso a pesar del corto experimento y muestreo pequeño, la actividad terapéutica del aceite de Copaiba como cicatrizante y otros tipos de lesiones cutáneas.

**De Almeida, et al. (2017).** Brasil, En sus estudios de “Aceite de Copaiba en la curación experimental de heridas en caballos” El efecto de 10% de aceite de Copaiba en heridas de caballos. Ocho caballos adultos. En el grupo de tratamiento, las heridas recibieron 10% de aceite de Copaiba y en el grupo de control, 0,9% de cloruro de sodio, en el vendaje diario durante 21 días. Las heridas fueron evaluadas tres, 7, 14 y 21 días después de la operación. No se observaron diferencias significativas entre los grupos. Las tasas medias de contracción de la herida lumbar fueron 80.54% y 69.64%, para los grupos control y tratados, respectivamente para las heridas en la región metacarpiana, estos promedios fueron 44.15% y 52.48%, respectivamente. El 10% de aceite de copaiba tiene beneficios en la cicatrización de heridas en las especies equinas y sugiere que el aceite de copaiba se puede usar como una posibilidad terapéutica en la terapia de heridas.

**Alves et al. (2017).** Brasil, En su estudio “uso de aceite de Copaiba en tratamiento de curación de lesiones”. El aceite de copaiba tiene efectos curativos y antiinflamatorios. Efectos que ya se han demostrado en varios modelos de animales. Efecto de aceite de copaiba asociado con micro agujas en la piel de ratas. Posteriormente sometidos a: microagujas aisladas, microagujas asociadas con aceite mineral y microneedling asociado con el aceite de copaiba. Se realizaron biopsias en todos los animales la mayor producción de colágenos y fibroblastos el aceite de copaiba asociado con microagujas fue capaz de estimular una mayor producción de colágenos y fibroblastos en la piel de las ratas y efecto cicatrizante.

**Oliveira et al. (2014).** Brasil En su estudio “actividad antimicrobiana de los aceites de copaiba brasileños obtenidos de diferentes especies del género *Copaifera*”. Usaron

bacterias gram positivas y gram negativas para valorar el efecto antibacteriano. Observaron que el aceite de Copaiba fue activo frente a bacterias gram positivos como *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus resistentes a meticlinas*, *Staphylococcus epidermidis* y *Bacillus subtilis*; con la concentración inhibitoria desde 31,3 a 62,5 ug/mL. Se evidenció moderada actividad frente a dermatofitos, *Microsporium canis* y *Trichophyton rubrum*. No se observó actividad contra levaduras y bacterias gram negativas. La microscopia electrónica se observó daño y roturas en la pared celular, lo que disminuyó la liberación de compuestos citoplasmáticos, alteraciones en la morfología y disminución en el volumen celular, lo que indica que el aceite de Copiaba puede alterar la pared celular.

## 2.2. Bases teóricas

### Clasificación taxonómica de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: *Copaifera*

Especie: *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer

#### a) Distribución geográfica

Existe más de 72 especies catalogados para el género *Copaifera*: *Copaifera reticulada*, *Copaifera multijuga*, *Copaifera glyricapa*, *Copaifera matii*, *Copaifera paupera*, *Copaifera chodotiana*, *Copaifera langsdorffi*, *Copaifera guianensis*, *Copaifera duckei*, *Copaifera pubiflora*, *Copaifera officinalis*. La mayoría distribuidos en América del Sur, particularmente en Perú, Bolivia, Argentina, Brasil, Colombia, Venezuela; Guyana en África, 16 especies son reportados en Brasil. En Bolivia en bosque húmedo tropical se ha encontrado especie *Copaifera duckei*. Atais (2015).



**Figura 1:** Zonas donde se encuentra especies de Copaiba. Fuente. Veiga (2002)

### **b) Uso tradicional de copaiba en la medicina**

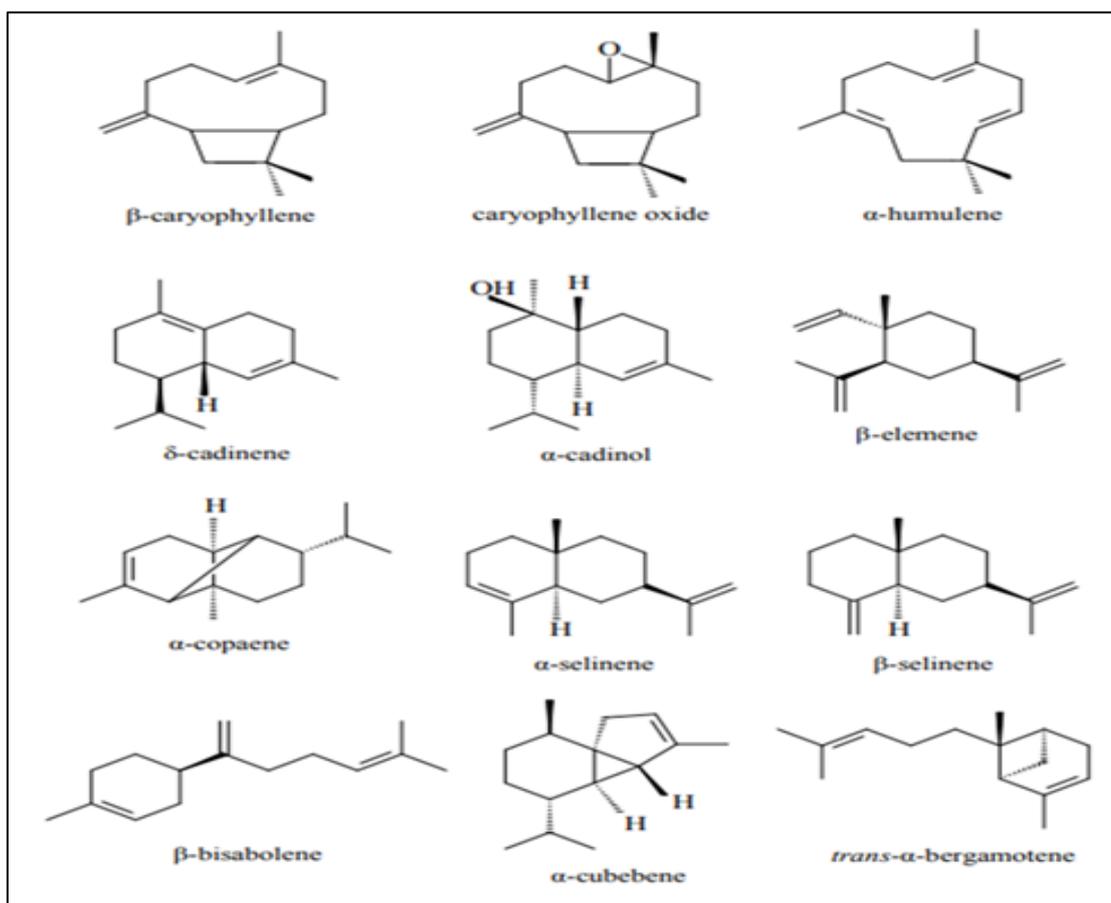
La Copaiba tiene una amplia gama de indicaciones etnofarmacológicas, como para el tratamiento de cistitis, gonorrea, incontinencia urinaria y sífilis; faringitis estreptocócica, hemoptisis, incluyendo bronquitis respiratorias, sinusitis y neumonía respiratorias, infección de la mucosa y la piel, leishmaniosis, dermatitis, psoriasis, heridas; eccemas, úlceras y lesiones del útero y leucorrea, anemia, mordedura de serpientes y dolor de cabeza. Las personas de Igarape Miri utilizaron para curar heridas, tumores de próstata, y antiparasíticos; la especie de *Copaifera* también se usaron por sus propiedades, afrodisiacas, anticancerígenas, antiirreumáticas, estimulantes, antisépticos, antitetánicas, antiinflamatorias, antiherpéticas, antihelmínticos, antitumorales. Maía (2015).

#### **Aspectos generales de copaiba**

El aceite de copaiba se obtiene del tronco de los árboles del género *Copaifera* por exudación de un líquido que va desde transparente, amarillo a Marrón claro, lo cual es usada en la superficie de la piel para el proceso de curación normal de las heridas, antiséptico urinario, antiinflamatorio, ulcera y cicatrización, en los últimos años las investigaciones realizadas han permitido la validación de diversos usos tradicionales, el cual destaca efecto cicatrizante evitando la colonización de bacterias demostrando así en los estudios preclínicos de las investigaciones. Masson (2013).

### Actividad farmacológica de los principales sesquiterpenos de Copaiba

Los principales sesquiterpenos que se encuentra en la oleorresina de copaiba son:  $\beta$ -bisabolene, Trans- $\alpha$ -bergamotene, óxido de cariofileno,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno,  $\alpha$ -cubebene,  $\alpha$ -cadinol,  $\alpha$ - y  $\beta$ -selinene,  $\beta$ -cariofileno  $\delta$ -cadineno,  $\beta$ -elemene y  $\alpha$ -copaene: Muchos estudios han demostrado que los sesquiterpenos son las principales sustancias que presentan en oleorresinas de copaiba. Representan más del 90% de su composición, muchos efectos se atribuyen a los principales sesquiterpenos de la oleorresina. Sin embargo, el efecto farmacológico de la oleorresina no ha atribuido a un solo componente, porque los componentes que presentan la oleorresina pueden interactuar sinérgicamente en la promoción del efecto cicatrizante. Da Trindate (2018).



**Figura 2:** Principales componentes químicos de *Copaiba* que se observa las diferentes estructuras de los componentes **Fuente.** Da Trindate (2018).

### **Extractos vegetales**

Los extractos son preparados concentrados de consistencia sólida, líquida o intermedia, derivados generalmente de vegetales desecados, se obtienen por evaporación parcial o totalmente el disolvente en los líquidos extractivos de origen vegetal. Los extractos según su consistencia y concentración de principio activo se clasifican en: extractos fluidos, secos, blandos y los crio extracto. Carrión (2016).

**Extractos Fluidos:** Por lo general los extractos fluidos se obtienen por percolación con alcohol de 70° y luego la concentración a vacío se estandariza. Generalmente se realiza extracción exhaustiva en donde se obtiene el 80% de líquido lo resto se concentra al vacío hasta la consistencia blanda. Guerra (2015).

**Extractos Secos:** Conjunto de todas las sustancias que en condición físicas no se volatilizan y son fácil de pulverizar, esto se obtiene por evaporación de disolventes con humedad no mayor de 5% y con la concentración superior de principio activo a comparación de las drogas originales. Aunque en ocasiones resultan hidroskopios y de fácil manipulación. También se utiliza alcoholes de diferentes concentraciones y agua, en la actualidad se puede obtener extractos secos nebulizados que son más estable que los tradicionales. Chaparro (2015).

**Extractos Blandos:** tienen una riqueza superior de la droga partida se extrae evaporando el disolvente con una consistencia semisólida. Pero que no moja el papel filtro el disolvente puede ser agua o mezclas hidroalcohólicas. Amaguaña (2018).

### **Piel**

La piel forma parte del sistema tegumentario, constituido por las glándulas subcutáneas, la piel es el órgano más grande del cuerpo humano y está constituida por tres capas superpuestas, de la superficie tales como:

- La Epidermis
- Dermis
- Hipodermis o tejidos celular subcutáneo

### **La Epidermis.**

Es la parte más superficial y está conformada por dos grupos de células: queratinocitos y células dendríticas. Las células no dendríticas se organizan en capas más superficiales hacia dentro. Palomino (2016):

- Capa cornea
- Capa lucida
- Capa granulosa
- Capa espinosa
- Capa basal

### **La Dermis**

Es el estrato conjuntivo que alberga en su interior de los plexos vasculonerviosos son 20 a 30 veces mayor que las capas anteriores y sirve de sostén a la epidermis están formado por componente fibroso como fibras de colágeno (principal estructura de la dermis) y fibra elástica. Sus células constitutivas son los fibroblastos, los mastocitos e histiocitos son las células más importantes. Por debajo de la dermis se encuentra la hipodermis, que sirven de protección frente a las lesiones de órganos internos. Navarrete (2017).

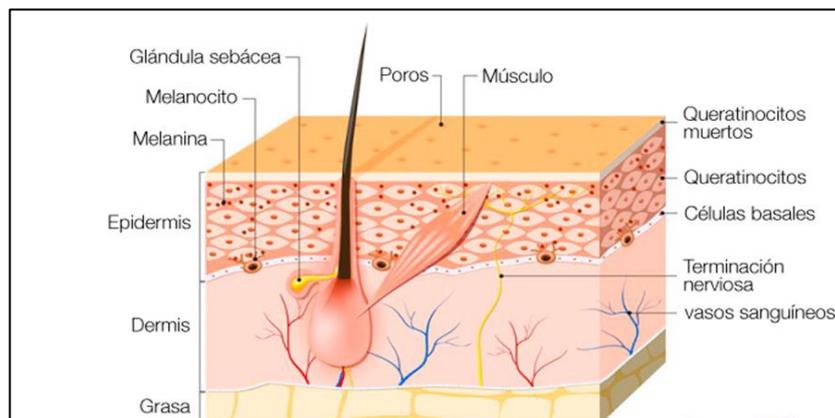
### **La Hipodermis**

Tejido subcutáneo, se extiende bajo la dermis, que tiene un predominio de tejido conjuntivo laxo y dependiendo del estado nutricional de cada persona, posee menor o mayor cantidad de tejidos adiposos relacionado a los tejidos más profundos como los tejidos musculares como el periostio o el pericondrio. Montalvo (2014).

### **Principales Funciones De La Piel**

- Protección: La piel tiene función de barrera de defensa entre el medio ambiente interno, externo y agentes patógenos.
- Termorregulación: La piel contiene suplementos sanguíneos que permite un correcto control de pérdida de energía por radiación conducción y convección.
- Almacenamiento de lípidos y agua.

- Sensación: la piel contiene terminaciones nerviosas que reaccionan ante diversos estímulos como frío, calor, presión, vibración y daño tisular. Medlineplus (2019).



**Figura 3:** Capas de la piel es esta figura se observa las capas de la piel Fuente. MedlinePlus (2019)

## Herida

La herida es el resultado de la ruptura de la superficie de la piel, causada muchas veces por un objeto cortante. Las lesiones tisulares se reparan mediante la regeneración del tejido lesionado se la pérdida del tejido es poco importante suele bastar con aproximar los bordes de las heridas, pero se la herida es de mayor consideración la curación se prolonga más tiempo. Bosch (2016).

## Clasificación de herida

- Heridas abiertas:** Son las heridas que permanecen por mayor tiempo sin cerrar tienen mayores de infecciones, se observa separación de tejidos blandos de la piel.
- Heridas cerradas:** Son heridas producidas por el golpe, produciendo una hemorragia en la piel (hematoma) y deben tratarse rápidamente para que no se compromete la función de un órgano y la circulación sanguínea.
- Heridas simples:** Son heridas que no ocasionan ningún daño importante en el órgano por ejemplo los arañazos.
- Heridas complicadas:** Son heridas profundas generalmente con lesiones en la piel, musculo, tendones, nervios y vasos sanguíneos pueden presentar perforación visceral.

- e. **Heridas limpias:** Son heridas de inflamación mínima que no están infectadas generalmente son cerradas.
- f. **Heridas contaminadas:** Son heridas que muestran inflamación, que han interrumpido la técnica estéril por lo general son accidentales.
- g. **Heridas infectadas o sucias:** Son heridas de tejidos muertos con signos de infección clínica, como los drenajes purulentos. Michua (2018).

### **Cicatrización**

La cicatrización es la reparación de procesos interactivos y dinámicos, cuya secuencia se superpone en el tiempo. Con la finalidad de cicatrización y se divide en tres fases (inflamatoria, proliferativa y remodelación tisular).

#### **a. Fase inflamatoria**

Es la fase de vasoconstricción rápida, hemostasia inmediata, y una vaso dilatación que permite la llegada rápida de las células circulantes al foco de la herida y va depender de diferentes factores como prostaglandinas, histaminas y derivados de complementos (C3a y C5a), también polimorfonucleares neutrófilos y monocitos, son atraídos hacia la herida gracias a las sustancias proinflamatorias como las citosinas por el complemento de los productos de degradación de fibrina y las moléculas adherentes que expresan selectinas en el endotelio. Y los leucocitos permite que se refuercen sus interacciones con las células endoteliales, los neutrófilos son los primeros en llegar hasta las heridas en donde libera una enzima proteolítica como colagenasas y elastasa favoreciendo la penetración de las células garantizando la limpieza de lesión y su efecto antiinfeccioso local, fagocitados por los macrófagos presentes en la herida por la citosina antiinflamatoria que ejerce función inmunomoduladores. Senet (2016).

#### **b. Fase proliferativa**

Conocido también como la tercera etapa de cicatrización, fase inflamatoria y precursora de la fase tisular se inicia el tercer día y dura 15 a 20 días, donde aparece una barrera protectora con el objetivo de aumentar los procesos regenerativo evitando el proceso infeccioso este se caracteriza por la activación de angiogénesis

y migración de fibroblastos, quiénes facilitan la formación de matriz extracelular provisional. Guarín (2015).

### **c. Remodelación tisular**

Última etapa donde comienza la fibroplasia y continúa por meses. La célula principal es el fibroblasto que produce la fibronectina, ácido hialurónico, proteoglicano y colágeno durante la fase de reparación que sirve de base para la migración celular y soporte tisular. El acabo de un año o más el colágeno tipo III que se depositó durante la reparación es remplazado por tipo uno similar al que tenía la dermis originalmente. Guarín (2015).

## **2.3. Marco conceptual**

### **Planta**

Las plantas son seres vivos pluricelulares que fabrican su propia materia orgánica, por lo general de color verde y no son capaces de desplazarse de un lugar a otro. Murray (2016).

### **Droga**

Sustancias químicas de origen natural, sintético o semi- sintético que, al ser ingerida por una persona, puede producir cambios fisiológicos, psicológicos o de conducta. OMS (2018).

### **Principios activos**

Son sustancias químicas que tienen actividad terapéutica. Pala (2017).

### **Sesquiterpenos**

Compuestos químicos con 15 átomos de carbono y tres isopreno, la mayoría presentan unión regular cabeza cola, Se distribuyen ampliamente en aceites esenciales. Abdulkhaleq (2018).

### **Inflamación**

La inflamación es una defensa de las células animales contra ciertas lesiones o infecciones microbianas. Girón (2018).

**Antimicrobiano**

Sustancias químicas que actúan contra los microorganismos impidiendo su multiplicación y desarrollo. Lindy (2006).

**Etnofarmacológicas**

Es la integración de diferentes especialidades (botánica, química extractiva estructural, farmacología experimental y clínica) que estudia de modo científico las formas terapéuticas atribuidas por el saber tradicional a todo tipo de productos naturales. Lindy (2006)

**Fibronectina**

Son proteína que se caracterizan por unirse a compuestos de carga negativa como la heparina o el DNA, a carga positiva como las poliaminas y a otros tan variados como el colágeno y el fibrinógeno. Lindy (2006).

**Fibroplasia**

Producción de tejido fibroso en algunos procesos orgánicos, como la cicatrización de una herida. Lindy (2006).

**Proteoglicano**

Molécula compuesta por la unión covalente entre una cadena de aminoácidos y uno o varios glicosaminoglicanos sulfatados. Girón (2008).

**2.4. Hipótesis y variables****2.4.1. Hipótesis general**

- a. El extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel tiene efecto cicatrizante en ratones albinos

**2.4.2. Hipótesis específicas**

- a. La concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel que tiene mejor efecto cicatrizante en ratones albinos es de 15%
- b. El efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel es significativo respecto al Cicatricure® en ratones albinos



## CAPÍTULO III METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo y diseño de investigación

El tipo de investigación fue aplicativo, nivel explicativo, diseño experimental prospectivo y transversal. Es **aplicado** porque se desarrolla en un determinado contexto y los resultados son aplicados a una situación objetiva y explica el fundamento de los mismos. Fue **experimental** porque se trabajó con grupos controles y grupos de prueba, se manipuló la variable independiente y la selección de la muestra fue de tipo probabilístico. Es **prospectivo** porque las observaciones se realizaron según tiempo de evolución de la cicatrización de heridas según tratamiento aplicado. Fue **transversal** porque se realizó una sola medida al culminar el proceso experimental. Oliveros (2018).

### 3.2. Descripción del método y diseño

#### 3.2.1. Recolección de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

Las hojas frescas de la planta de Copaiba, se recolectaron en el mes de abril del año 2019 en la Ciudad de Yurimaguas, capital de la provincia de Alta Amazonas en el departamento de Loreto ubicado a 148 msnm. Las hojas seleccionadas fueron desprovistas del polvo con escobilla de cerdas delgadas, luego se embalaron en cajas de cartón y se trasladaron a laboratorio de investigación de la Universidad Interamericana para el Desarrollo.

#### 3.2.2. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) (Método CYTEC. 1995)

Las hojas seleccionadas de Copaiba fueron deshidratadas en la estufa de aire circulante a 40 °C durante 72 horas, seguido se trituró en molino de cuchilla de acero inoxidable hasta polvo homogéneo y fino, el cual se pesó 100 g y se maceró en solvente hidroetanol 70% por 10 días a temperatura ambiente en frasco ámbar se agitó cada 12 horas, posterior se filtró con papel de filtro N° 40, luego, el filtrado se colocó a la estufa a 40 °C hasta evaporación total del solvente y se obtuvo el extracto hidroalcohólico de las hojas de

*Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba), luego se almacenó en frasco de vidrio protegido de la luz y el calor, se refrigeró hasta posterior uso.

### 3.2.3. Prueba de solubilidad y tamizaje fitoquímico. Método Lock (2016).

Se pesó 5 mg de extracto seco de hojas de Copaiba y se colocó en 8 tubos de ensayo para observar la solubilidad se añadió solventes de diferentes polaridades: Agua, etanol, metanol, cloroformo, acetona, butanol, hexano, acetato de etilo. La valoración de solubilidad se realizó según lo siguiente: Muy soluble (+++), soluble (++) , poco soluble (+) e insoluble (-).

Para el tamizaje fitoquímico se pesó 40 mg de extracto seco de hojas de Copaiba, se disolvió en 20 mL de metanol, luego se añadió 1 mL en cada tubo de ensayo y seguido se agregó V gotas de reactivos específicos para identificación de metabolitos secundarios.

**Tabla 2**

*Reactivos de marcha fitoquímica*

Reactivo	Constituyentes químicos
1. Popoff	Alcaloides
2. Wagner	Alcaloides
3. Dragendorff	Alcaloides
4. Mayer	Alcaloides
5. Bertrand	Alcaloides
6. Sonnesnschein	Alcaloides
7. Lieberman Burchard	Triterpenoides y/o esteroide
8. Shinoda	Flavonoides
9. Gelatina	Taninos
10. Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos
11. Rosenhein	Leucoantocianidinas
12. Ninhidrina	Aminoácidos libres
13. Fehling A y B	Azúcares reductores
14. Control	----

Abundante (+++), Regular (++) , Poco (+), Ausencia (-)

Tabla 2 indica los reactivos que se utilizó en la marcha fitoquímica **fuentes:** elaboración propia

### 3.2.4. Determinación del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel. Método Vargas (2007)

Se emplearon 30 ratones albinos, 15 hembras y 15 machos, con peso entre 14a 25 gr, adquiridos en el Instituto Nacional de Salud (INS), fueron aclimatados durante 4 días a 23 °C, 60 % de humedad, ciclo luz/oscuridad 12 horas. Se formaron 5 grupos de ratones en forma aleatoria. Todos los ratones fueron depilados en el tercio superior de lomo con crema depiladora Vett®. 24 horas después se realizó un corte de 1 cm en la zona depilada con la ayuda de un bisturí. Seguido se aplicó los tratamientos por vía tópica cada 12 horas durante 7 días, cada grupo recibió un tratamiento diferenciado como se indica.

Grupo A	Control gel base
Grupo B	GEHHCP 5%
Grupo C	GEHHCP 10%
Grupo D	GEHHCP 15%
Grupo E	Cicatricure®

GEHHCP=Gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

Luego de los 7 días de tratamiento, los animales fueron sacrificados y se realizó la prueba de tensión de apertura de herida mediante un dinamómetro, el porcentaje del efecto cicatrizante en cada grupo se calculó según la siguiente expresión:

$$\% \text{ de efecto cicatrizante} = (100 * GT / GC) - 100$$

GT = Grupo tratado    GC = Grupo control

Asimismo, se obtuvo muestra de piel de cada ratón para realizar estudio histológico según técnica de laboratorio anatomopatológico.

### 3.2.5. Materiales, equipos y reactivos

#### MATERIALES:

- Beacker de vidrio de 250ml y 100ml
- Algodón ckf 500gr

- Gasa medica 10X10cm
  - Papel filtro whatman n 40
  - Bagueta de vidrio gotero de plástico
  - Frasco de vidrio color ámbar de un litro
  - Guantes de látex descartable
  - Mascarilla descartable
  - Gorro descartable
  - Pipeta de vidrio 1ml,2ml,5ml y 10 ml
  - Propipeta de goma
  - Mortero y pilón de porcelana
  - Espátula de metal
  - Tubos de ensayo de vidrio 13X100ml
  - Probeta de 100ml
- Jaula de metal

### **EQUIPOS**

- Balanza analítica
- Balanza triple brazo
- Estufa marca Memmert
- Molino casero
- Cocinilla eléctrica

### **REACTIVOS.**

- Wagner
- Popoff
- Mayer

- Draggendorf
- Shinoda
- Cloruro férrico
- Bouchardat
- Gelatina
- Ninhidrina
- Fehling A-B
- Molish
- Agua
- Etanol
- Metanol
- Cloroformo
- Acetona
- Acetate
- Cicatricure®
- Extracto hidroalcoholico de *Copaifera paupera* (copaiba)

### 3.3. Población y muestra

- **Población vegetal:** Planta de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)
- **Población animal:** 30 ratones albinos, 15 hembras y 15 machos con peso entre 14 a 25 g
- **Muestra vegetal:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel
- **Muestra animal:** 5 grupos de ratones albinos ambos sexo (n=6), a cada grupo se administró un tratamiento distinto

### **3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

La técnica fue la observación el cual se realizó a cada muestra de estudio

Los instrumentos fueron elaborados Ad hoc para recolección de datos de prueba de solubilidad, tamizaje fitoquímico y efecto cicatrizante

### **3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos**

Los datos obtenidos fueron registrados en el paquete en hoja de cálculo de Excel, luego se migró al paquete estadístico SPSS versión 20. Se realizó el análisis ANOVA (Análisis de varianza) de una sola vía, se realizó también análisis descriptivo, comparaciones múltiples de Tukey, análisis de Duncan, se trabajó con 95% de significancia ( $p < 0.05$ ), los resultados fueron expresados en promedio  $\pm$  error estándar.

## CAPÍTULO IV PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1. Presentación de resultados

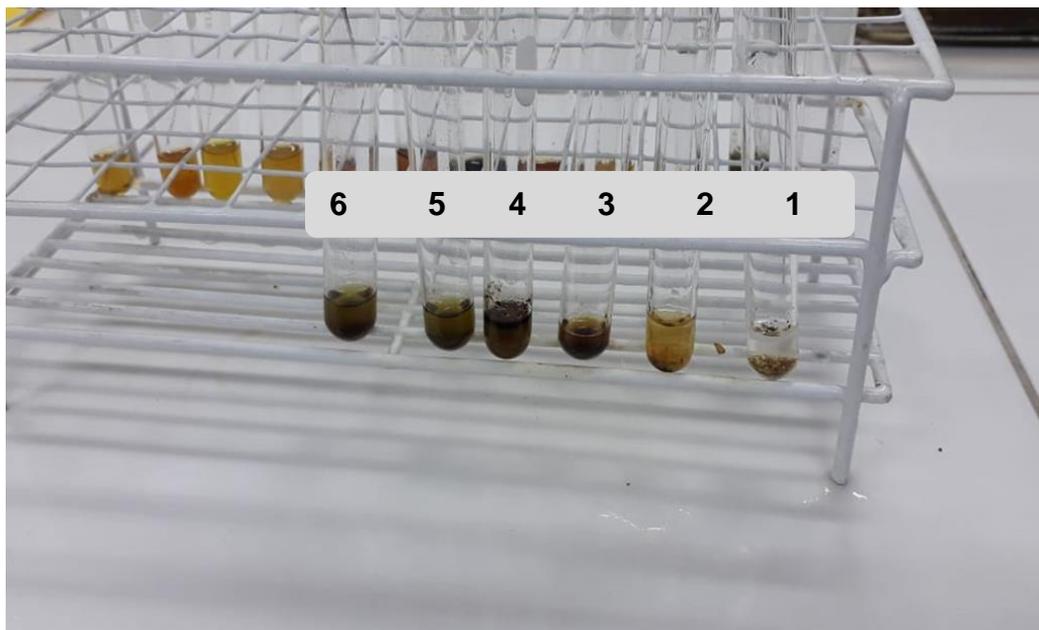
#### Ensayo de solubilidad

**Tabla 3**

*estudio preliminar de la Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de Copaifera paupera (Herzog) Dwyer (Copaiba)*

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
1. Agua	-
2. Etanol	+
3. Metanol	+++
4. Cloroformo	+++
5. Acetona	++
6. Acetato de etilo	++

Muy soluble (+++), Soluble (++) , Poco soluble (+), Insoluble (-)



**Figura 4.** Solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) Fuente. Elaboración propia

El extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) resultó tener buena solubilidad en metanol y cloroformo, soluble en acetona y acetato de etilo, poco soluble en etanol e insoluble en agua (tabla 3 y figura 4).

### Marcha fitoquímica

**Tabla 4**

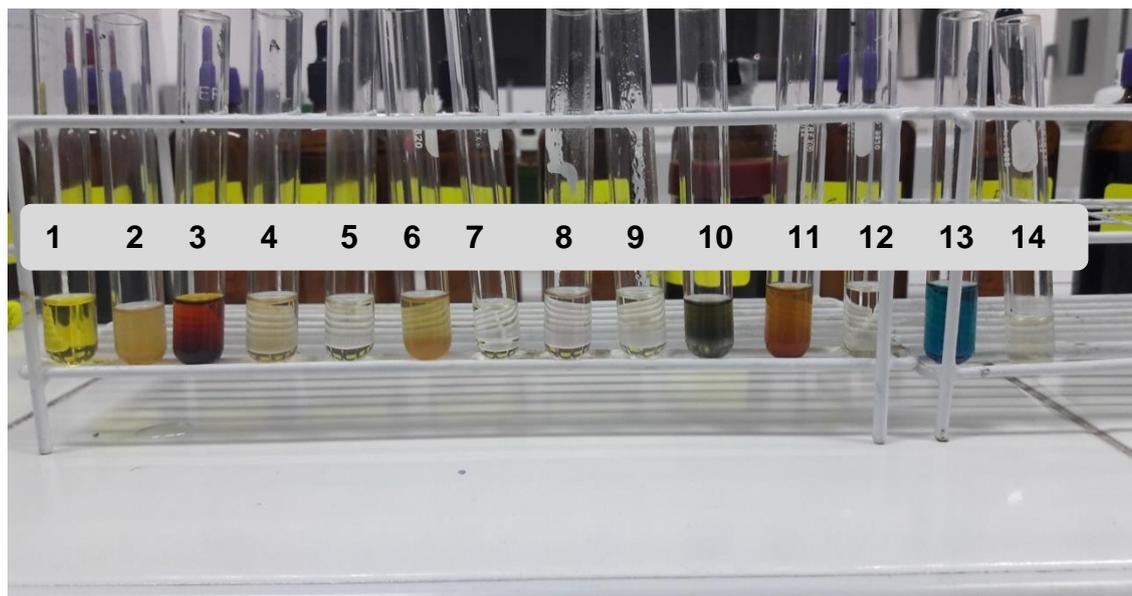
*estudio preliminar de Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de hojas de Copaifera paupera (Herzog) Dwyer (Copaiba)*

Reactivo	Constituyentes químicos	Resultado
1. Popoff	Alcaloides	-
2. Wagner	Alcaloides	+
3. Dragendorff	Alcaloides	++
4. Mayer	Alcaloides	-
5. Bertrand	Alcaloides	++
6. Sonnesnschein	Alcaloides	++
7. Lieberman Burchard	Triterpenoides y/o esteroide	-
8. Shinoda	Flavonoides	+
9. Gelatina	Taninos	+
10. Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
11. Rosenhein	Leucoantocianidinas	++
12. Ninhidrina	Aminoácidos libres	-
13. Fehling A y B	Azúcares reductores	-
14. Control	----	---

Leyenda: Abundante (+++), Regular (++), Poco (+), Ausencia (-)

*Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de hojas de Copaifera paupera (Herzog) Dwyer (Copaiba)* **Fuente.** Elaboración propia

En el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) se identificaron metabolitos secundarios en mayor proporción compuestos fenólicos, en regular proporción leucoantocianidinas y alcaloides, en poca proporción taninos y flavonoides como se aprecia en la tabla 4 y figura 5.



**Figura 5.** Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) **Fuente.** Elaboración propia

### Ensayo de tensión de apertura de herida en el efecto cicatrizante

**Tabla 5**

*Promedio de tensión de apertura de herida en el efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de Copaifera paupera (Herzog) Dwyr (Copaiba)*

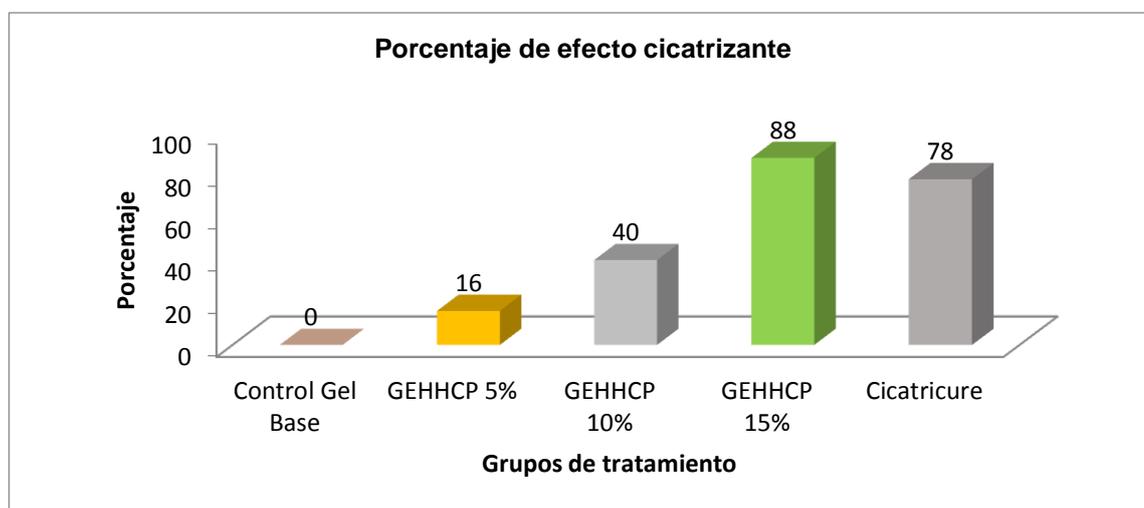
	n	Promedio	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	Efecto cicatrizante (%)
				Límite inferior	Límite superior			
Control	6	58.67	3.830	54.65	62.69	54	63	0
Gel Base	6	68.17	6.242	61.62	74.72	60	75	16%
GEHHCP 5%	6	82.17	11.805	69.78	94.56	67	95	40%
GEHHCP 10%	6	110.67	12.723	97.32	124.02	85	117	88%
GEHHCP 15%	6	104.83	14.345	89.78	119.89	76	113	78%

n=Número de animales por grupo GEHHCP=Gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) **Fuente.** Elaboración propia

$$\% \text{ de efecto cicatrizante} = (100 * GT / GC) - 100$$

GT = Grupo tratado GC = Grupo control

En la tabla 5 y figura 6, se aprecia que el GEHHCP 15% tiene mayor efecto cicatrizante en ratones albinos (88%) y es significativo ( $p < 0.05$ ) respecto a las otras dosis del GEHHCP 5% (16%); GEHHCP 10% (40%) y del grupo control gel base ( $p < 0.05$ ). Así también el grupo GEHHCP 15% tiene mayor efecto que los tratado con el Cicatricure® (78%), sin embargo esta diferencia no es significativa ( $p > 0.05$ ).



**Figura 6.** Porcentaje del efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

**Tabla 6**

*Análisis ANOVA del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	12221.533	4	3055.383	27.249	.000
Intra-grupos	2803.167	25	112.127		
Total	15024.700	29			

*Análisis ANOVA del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)* **Fuente.** Elaboración propia

En la tabla 6 se observa que los promedios de la prueba de tensión de apertura de herida en los grupos de tratamiento son diferentes, es decir, que por lo menos uno de los grupos tiene efecto cicatrizante en ratones.

## Estudio histológico de herida en el efecto cicatrizante

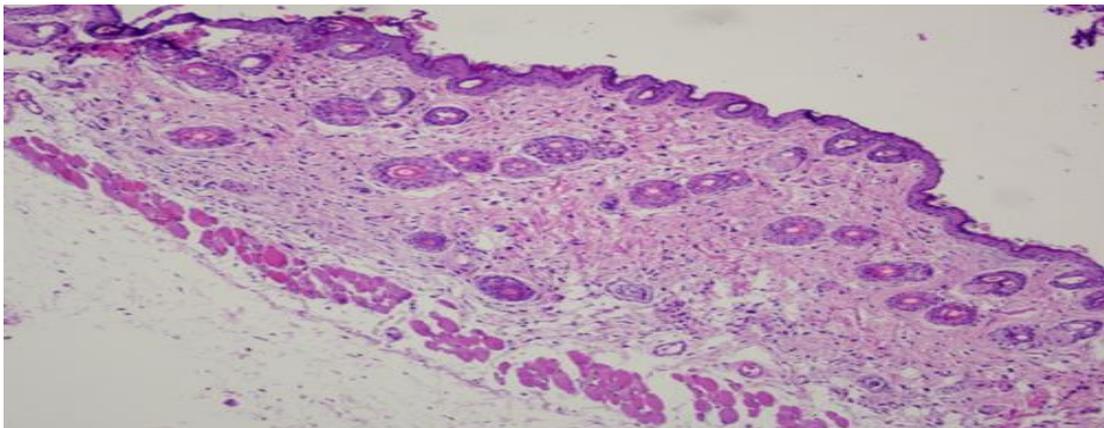
**Tabla 7**

*Indicadores de evaluación del estudio histológico del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)*

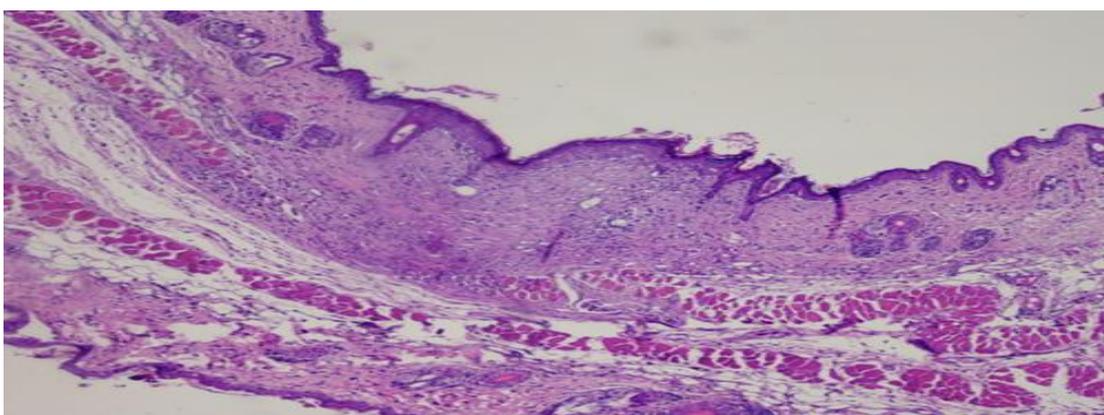
Grupos	Inflamación		Fibrosis		Neoangiogenesis		Cicatrización	
	Leve	Moderado	Leve	Moderado	No	Leve	Leve	Moderado
Control gel base	X		X		X		X	
GEHHCP 5%		X	X		X		X	
GEHHCO 10%	X		X			X	X	
GEHHCO 15%	X			X		X		X
Cicatricure®	X		X			X	X	

GEHHCP=Gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) **Fuente.** Elaboración propia

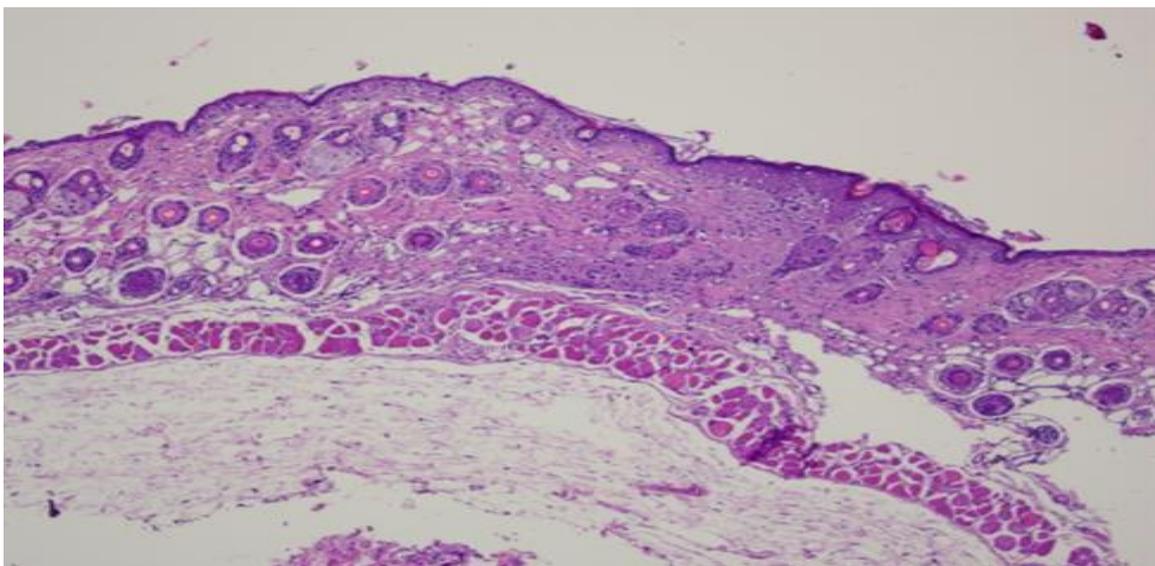
En la tabla 7 y figura del 7 al 11 se observa escasa inflamación en los grupos del GEHHCP 10% y 15%, existe mayor inflamación en el grupo GEHHCP 5%. La fibrosis se presentó hasta 50% de la muscular en los grupos GEHHCP 5% y 10% y hasta 90% en el grupo GEHHCP 15%. Existe ausencia de neoangiogénesis en el grupo GEHHCP 5% mientras que en los grupos de GEHHCP 10%, 15% y Cicatricure® existe presencia de neoangiogénesis. En todos los grupos de tratamiento existe cicatrización leve, excepto en el grupo GEHHCP 15% existe mayor cicatrización respecto a los otros grupos tratados.



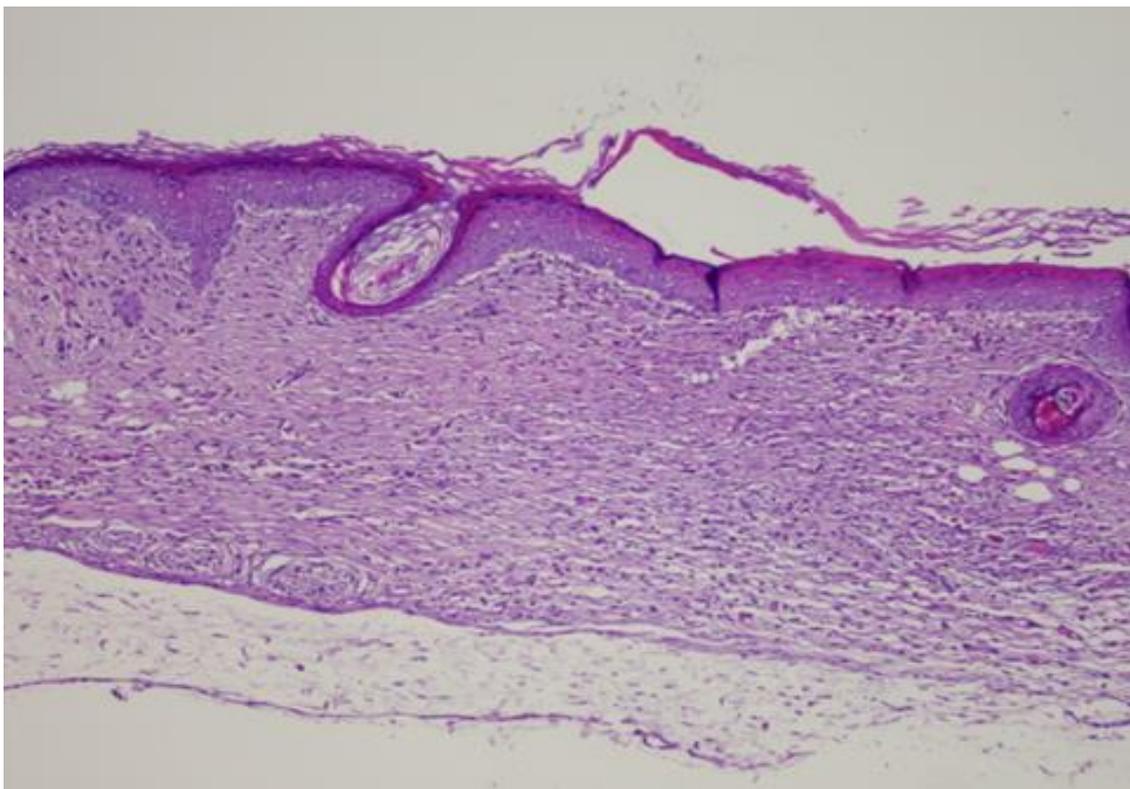
**Figura 7.** Histología de piel del grupo control gel base **Fuente.** Elaboración propia



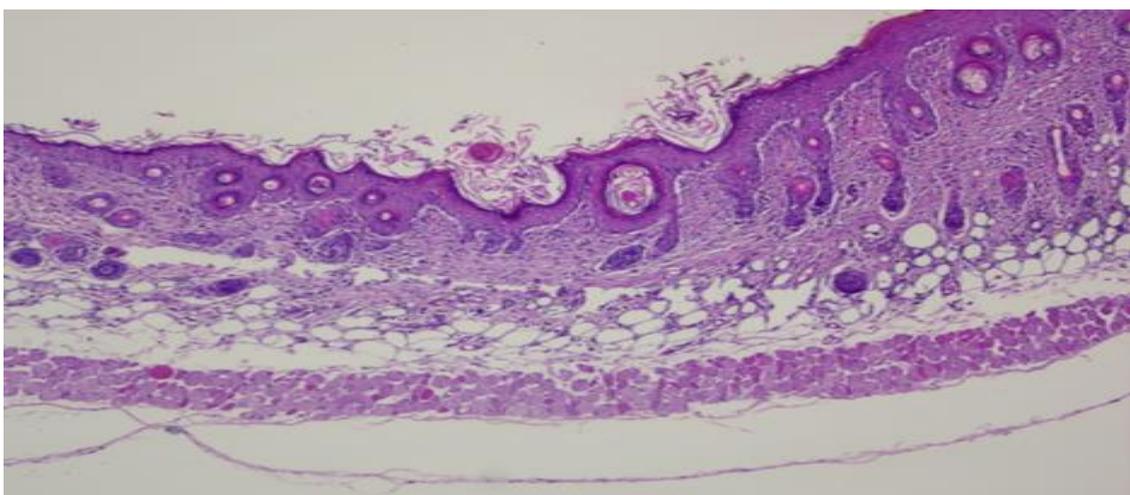
**Figura 8.** Histología de piel del grupo GEHHCP 5% **Fuente.** Elaboración propia



**Figura 9.** Histología de piel del grupo GEHHCP 10% **Fuente.** Elaboración propia



**Figura 10.** Histología de piel del grupo GEHHCP 15% **Fuente.** Elaboración propia



**Figura 11.** Histología de piel del grupo GEHHCP 15% **Fuente.** Elaboración propia

## 4.2. Prueba de hipótesis

### 4.2.1. Hipótesis general

**H1:** El extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) preparado en forma de gel tiene efecto cicatrizante en ratones albinos

**H0:** El extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) preparado en forma de gel, No tiene efecto cicatrizante en ratones albinos.

#### Tabla 8

*Análisis de Duncan de los grupos de tratamiento en el ensayo de efecto cicatrizante*

Grupos	n	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control Gel Base	6	58.67		
GEHHCP 5%	6	68.17		
GEHHCP 10%	6		82.17	
Cicatricure	6			104.83
GEHHCP 15%	6			110.67
Sig.		.133	1.000	.349

n=Número de ratones por grupo GEHHCP=Gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) **fuentes:** elaboración propia

En la tabla 9 se aprecia que al comparar el grupo de Cicatricure® con los grupos tratados con el extracto se prueba que el GEHHCP 15% tiene efecto cicatrizante similar ( $p > 0.05$ ) al Cicatricure® y efecto diferente ( $p < 0.05$ ) respecto al control y las otras concentraciones del extracto. Así también se prueba que el GEHHCP 10% tiene efecto cicatrizante y es significativo respecto al control ( $p < 0.05$ ). El efecto del grupo del GEHHCP 5% es similar a lo observado con el grupo control gel base. Se observa que al menos dos grupos (GEHHCP 10% y 15%) tienen efecto cicatrizante.

Por lo expuesto se acepta la hipótesis H1.

#### 4.2.2. Hipótesis específicas

**H1:** La concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel que tiene mejor efecto cicatrizante en ratones albinos es de 15%.

**H0:** La concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel que tiene mejor efecto cicatrizante en ratones albinos No es de 15%.

**Tabla 9**

*Comparaciones múltiples según test de Tukey de los grupos de tratamiento en el ensayo de efecto cicatrizante*

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior	Límite superior
	Control Gel Base	52.000	6.114	.000*	34.05	69.95
GEHHCP 15%	GEHHCP 5%	42.500	6.114	.000*	24.55	60.45
	GEHHCP 10%	28.500	6.114	.001*	10.55	46.45
	Cicatricure	5.833	6.114	.873	-12.12	23.79

GEHHCP=Gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

\* $p < 0.05$

**Fuente.** Elaboración propia

En comparaciones múltiples de test de Tukey se prueba que el grupo del GEHHCP 15% tiene mayor efecto cicatrizante y es significativo respecto a las otras concentraciones del extracto de Copaiba ( $p < 0.05$ ), sólo respecto al grupo Cicatricure® su efecto es similar ( $p > 0.05$ ). Por tanto, se aprueba la hipótesis H1 y se rechaza la hipótesis H0.

**H2:** El efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel es significativo respecto al Cicatricure® en ratones albinos

**H0:** El efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel No es significativo respecto al Cicatricure® en ratones albinos

**Tabla 10**

*Comparaciones múltiples según test de Tukey de los grupos de tratamiento en el ensayo de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer*

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior	Límite superior
Cicatricure	Control Gel Base	46.167	6.114	.000	28.21	64.12
	GEHHCP 5%	36.667	6.114	.000	18.71	54.62
	GEHHCP 10%	22.667	6.114	.008	4.71	40.62
	GEHHCP 15%	-5.833	6.114	.873*	-23.79	12.12

GEHHCP=Gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

\*p > 0.05

**Fuente.** Elaboración propia

Según lo expuesto en la tabla 10 de análisis de Tukey se prueba que al comparar los efectos cicatrizantes del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) respecto al Cicatricure no es significativo ( $p > 0.05$ ) en al menos en uno de los grupos del extracto, en este caso comparado con el grupo GEHHCP 15%. Quiere decir que el GEHHCP 15% tiene similar efecto cicatrizante que el Cicatricure®. Por lo expuesto se acepta H0 y rechaza la hipótesis H2..

### 4.3. Discusión

La cicatrización de heridas puede ser facilitada por aplicación tópica o sistémica de productos naturales con propiedades medicinales, los componentes fitoquímicos bioactivos tales como taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, compuestos fenólicos obtenidas de plantas medicinales tienen función específica sobre las propiedades de cicatrización, así tenemos que las saponinas contribuyen en la síntesis de pro-colágeno, los taninos, flavonoides o compuestos fenólicos actuarían eliminando radicales libres en la membrana celular y ayudan a restablecer la piel o mucosa dañada. Ibrahim, (2018) La planta de Copaiba crece en la selva peruana y popularmente es usado el aceite obtenida de sus tallos por sus propiedades medicinales anitumorales, anituberculoso, antireumático. Da Trindade (2018). En el presente trabajo se estudió al gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera Paupera* (Herzog) Dwyer, en el extracto se identificó metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, leucoantocianidinas, alcaloides, taninos y flavonoides (tabla 3 y figura 7). Estos resultados son compatibles con la buena solubilidad del extracto en metanol (tabla 2, figura 6) el cual indica que los componentes activos tienen carácter polar y por tanto facilita la solubilidad por formación de puentes de hidrógeno. Mirghazanfan, (2019) indica que los taninos favorecen la epitelización y contribuyen a la formación neoangiogénesis y los compuestos fenólicos disminuyen el proceso inflamatorio en el lugar de la lesión dérmica. Wang (2017) refieren que los taninos facilitan el cierre de heridas probablemente por aumento de células fibroblásticas y facilitar la síntesis de colágeno en piel. Estos mecanismos estarían involucrados en el efecto cicatrizante mostrado por el extracto de hojas de Copaiba preparado en forma de gel. Se observó que el efecto dependió de la concentración del gel, es decir que la concentración del gel al 15% tuvo mejor y significativo efecto que la concentración del 10% y 5% ( $p < 0.05$ ) y comparado con el Cicatricure® el efecto fue similar ( $p > 0.05$ ) según se aprecia en la tabla 3. El estudio de cortes histológicos comprueba el efecto cicatrizante por disminución de la inflamación, aumento de fibrosis y neoangiogénesis en especial en el grupo que fue tratado con la concentración del gel del extracto al 15%. Samadi, et al. (2017) prepararon crema al 10 y 20% a base de Cucurbita moschata y observaron curación de heridas por aumento de migración y proliferación celular, es decir aumentó la epitelización en piel dañada. Herrera.

(2017) en su estudio de extractos etanólico de corteza de *Colletia spinosissima* indican que el efecto cicatrizante se debe a la producción de colágeno en tejidos epiteliales por acción de taninos, alcaloides y flavonoides luego de aplicación tópica en heridas inducidas a ratas albinas. Los mecanismos descritos estarían asociados al efecto cicatrizante hallado en nuestro estudio. Conclusión, se comprobó que el gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) tuvo efecto cicatrizante en ratones albinos corroborado mediante prueba tensiométrica y estudios histológicos.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

- ✓ Se comprobó que el gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copiafera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) tiene efecto cicatrizante en ratones albinos el cual fue comprobado mediante prueba tensiométrica y estudios hitológicas
- ✓ Se identificó en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copiafera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) presencia de compuestos fenólicos, leucoantocianidinas, alcaloides, taninos y flavonoides y que tendrían función específica en el proceso de cicatrización de heridas
- ✓ La concentración del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copiafera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) que evidenció mejor efecto cicatrizante fue del 15% el cual diferente y significativo respecto a los otros grupos tratados con el gel a base del extracto en estudio
- ✓ La concentración del gel al 15% a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copiafera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) resultó tener efecto similar respecto al grupo tratado con Cicatricure®, es decir los efectos cicatrizantes de ambos grupos no fueron significantes.

#### 5.2. Recomendaciones

- ✓ Realizar investigación de extractos de hojas de Copaiba para valorar el mecanismo de acción del proceso de cicatrización de heridas
- ✓ Realizar investigaciones de toxicidad a dosis repetidas de extractos de hojas de Copaiba y valorar indicadores bioquímicos, hematológicos y anatomopatológicos
- ✓ Realizar investigaciones clínicas de extractos de hojas de Copaiba para proponer formulación de fitofármacos e incorporarlo a la terapéutica de cicatrización de heridas

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdulkhaleq, L., Assi, M., Rasedee, A., Saad, Z., Taufiq, Y., Hezme, M. (2018). *The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review*. *Veterinary World*. 11(1): 1-9
- Almora, Y., Arroyo, J., Quino, M., Martínez, J. (2014). Condorhuamán M, Flores M, Bonilla P. *Efecto citoprotector y antiseptor del aceite de Copaifera officinalis en lesiones gástricas inducidas en ratas*. *An Fac med*. 70(2): 89-96
- Alves, C., Pereira, W., Paracampo, R., Garcia, P., Trindade, R., Vale, D., Nascimento, B., Ferraioli, A., Macedo, N., Oliveira, F. (2017). *Uso de aceite de Copaiba en tratamiento de curación de lesiones*. *Surg Cosmet Dermatol*. 9(4): 2-6.
- Amaguaña, F., Churuchumbi, E. (2018). *Estandarización fitoquímica del extracto de caléndula*. Tesis de Posgrado de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito.
- Atais, G. (2015). *Desarrollo de criterios para el manejo del copaibo (Copaifera langsdorffii) en el sector chiquitano norte – transición amazonia, eco-región del bosque seco*. Chiquitano, Bolivia.
- Bártolo, P., Pereira, R. (2015). *Traditional therapies for skin wound healing*. *Advances in wound care*. 1(1): 2-23. DOI: 10.1089/wound.2013.0506
- Batista, I., Silva A. (2014). *Influencia del aceite de Copaiba (Copaifera sp.) en el tratamiento de herida cutánea*. *Rev. Pesq*. 1(1): 4-5.
- Bosch, A. (2016). *Las heridas y su tratamiento*. 1(1): 2-3
- Carrion, A., Garcia, C. (2016). *Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de métodos*. 43-150

- Chandan, S. (2019). *Human wounds and its burden: An updated compendium of estimates. Advances in wound care.* 8(2): 39-48. DOI: 10.1089/wound.2019.0946
- Chaparro, E. (2015). *Evaluación de la influencia del contenido de borras y azúcares reductores del vino base de uva Italia (Vitis vinífera L.) para la obtención del pisco mostos verde.* Tesis de Posgrado Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-Tacna.
- Cumali, K. (2018). *Medicinal Plants and their Traditional Uses.* Journal of Advances in plant biology. 1(1): 1-8. DOI: 10.14302 / issn.2638 - 4469.japb - 18 – 2423
- CYTED. (1995). *Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación.*
- Da Silva, J., Da Trindade, R., Setzer, W. (2018). *Copaifera of the Neotropics: A Review of the Phytochemistry and Pharmacology.* Int J Mol Sci. 19(5). DOI: 10.3390 / ijms19051511
- Da Trindate, R., Da Silva, J., Setzer, W. (2018). *Copaifera del neotrópico: una revisión de la Fotoquímica y Farmacología.* International Journal of Molecular Sciences. DOI: 10.3390 / ijms19051511; 4-33.
- Das, B., Veiga, V., Oliveira, A., Ueda, T., Pinto, A., Vataru, C. (2008). *Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the Copaifera genus.* Mem Inst Oswaldo Cruz. 103(3); 277-281. DOI: 10.1590/S0074-02762008005000015
- De Almeida, F., Lima, A., Nardin, E., Eduardo, C., Santo, G., Bromers ,I., Venturoli ,S. (2017). *Aceite de Copaiba en la curación experimental de heridas en caballos.* Ciencia Rural Santa Maria. 47(1): 1-7

- Dhivya, S., Vijaya, V., Santhini, E. (2015). *Wound dressings – a review. BioMedicine.* 5(4): 24-28. DOI: 10.7603/s40681-015-0022-9
- Girón, W. (2008). *Antimicrobianos. Facultad de Ciencias Médicas, UNAH.*
- Guarin, C., Quiroga., P., Landinez, N. (2015). *Proceso de cicatrización de heridas de piel, campos endógenos y su relación con las heridas crónicas.* Rev. Fac. Med. 61(4): 441-448
- Guerra, A. (2015). *Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físico químicas de la extractos fluidos, blandos y secos así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de cahuala (phlebodium pseudomaureum) a nivel de laboratorio.* Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química de Universidad San Carlos de Guatemala.
- Guevara, T. (2017). *Panorama de los recursos genéticos en Perú.* UNAM. 2(1).
- Herrera, E., Alcántara, W. (2015). *Efecto protector de la resina de Copaifera officinalis “copaiba” en lesiones gástricas inducidas por indometacina en Rattus rattus var albinus en la ciudad de Cajamarca.* Concytec.
- Herrera, S. (2017). *Efecto protector del champú conteniendo extracto etanólico de corteza y brotes tiernos de Colletia spinosissima J. Gmelin (TACSANA) sobre la irritación inducida en piel de ratas. Tesis para optar el Grado de Magíster en Farmacología con mención en Farmacología Experimental.* Unidad de Posgrado Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Ibazeta, C., Pimentel, G. (2018). *Efecto cicatrizante del gel a base de Musa acuminata colla (cáscara de plátano) en heridas superficiales inducidas en ratones albinos.* Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

- Ibrahim, N., Wong, S., Mohamed, .I, Mohamed, N., Chin, K., Nirwana, S., Shuid, A. (2018). *Wound healing properties of selected natural products*. Int. J. Environ. Res. Public Health. 15(1): 2-23. DOI: 10.3390/ijerph15112360
- Llndy, M. (2006). *Contribución al estudio de los factores que afectan la astringencia del vino tinto*. La Universidad Rovira Virgili.
- Lock, O. (2016). *Investigación Fitoquímica. Métodos para el estudio de productos naturales*. 3<sup>era</sup> ed. Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Maia, L., De Sousa, F., Sousa, P., Oliveira, J., Alexandro, J., Da Veiga, V. (2015). *Química y actividades biológicas de los terpenoides de oleorresinas de copaiba (copaifera spp.)*. Molécula. 17; doi 10.3390,9-24
- Masson, D. (2013). *Actividad antimicrobiana de la oleorresina de copaipa (Copaifera langsdorffii) en bacterias de importancia clínica en heridas cutáneas*. Rev. bras. plantas med. 15(4): 1-10
- Medlineplus. (2019). *Capas de la piel*. En línea. Fecha de acceso 18 setiembre 2019. URL disponible en: [https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp\\_imagepages/8912.htmj](https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/8912.htmj)
- Michua, M., Ramírez, J. (2018). *Manejo de heridas crónicas con terapia de presión negativa ambulatoria por profesionales de enfermería en el servicio de clínica de heridas*. Facultad de Enfermería y Obstetricia. Universidad Autónoma del Estado de México
- Mirghazanfan, S., Mohammadi, M. (2019). *Investigation of Iranian pomegranate cultivars for wound healing components*. Eur J Transl Myol. 29(1): DOI: 10.4081/ejtm.2019.7995

- Montalvo, C. (2014). *Sistema tegumentario piel y anexos (faneras)*. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Munray, W. (2016). *Introducción a la botánica*. 4<sup>ed</sup>. Editorial Interamericana
- Navarrete, G. (2017). *Histología de la piel*. Rev Fac Med UNAM. 46(4): 1-12
- Oliveira, A., Ueda, T., Prado, B., Veiga, V., Pinto, A., Vataru, C. (2014). *Antimicrobial activity of Brazilian copiaba oils obtained from different species of the Copaifera genus*. Men. Inst. Oswaldo Cruz. 103(3): 277-281
- Oliveros, R., Tam, J., Vera, G. (2018). *Tipos, métodos y estrategias de investigación científica*. Pensamiento y Acción. 5(1): 1-10
- Organización Mundial de la Salud. (2018). *Medicina tradicional, Medicamentos Esenciales y Política Farmacéutica*. Ginebra.
- Orsted, H., Keast, D., Forest, L., Francoise, M. (2018). *Basic principles of wound healing*. Wound Care Canada. 9(2): 4-12
- Pala, J. (2002). Contribución al conocimiento de los aceites esenciales del género “eryngium” en la península ibérica. Universidad Complutense de Madrid Facultad de Ciencias Biológicas, Tesis doctoral.
- Palomino, M. (2016). *Fisiología de la piel*. Revista Peruana de Dermatología. 11(1): 1-8
- Samadi,N., Rahimi, R., Bahramsoltani, R., Heidari, M., Farzae,i M., Abdolghaffari, A., et al. (2017). *Evaluation of phytochemicals, antioxidant and burn wound healing activities of Cucurbita moschata Duchesne fruit peel*. Iran J Basic Med Sci. 20(7): 798–805. DOI: 10.22038/IJBMS.2017.9015
- Sanizo, M., Alarcón, M. (2016). *Efecto clínico de Copaifera paupera en la recuperación de la mucosa alveolar post exodoncia*. Rev. Evid. Odontol Clinic. 2(1): 2-4

- Senet, P. (2016). *Fisiología de la cicatrización cutánea* Universidad Nacional Autónoma de México. Elsevier.
- Singh, S., Young, A., McNaught, C. (2017). *The physiology of wound healing*. Elsevier. 35(9): 473-477. DOI: 10.1016/j.mpsur.2017.06.004
- Suárez, M., Carvalho, A., Grisotto, M., Diniz, R., Figueiredo, C., Zagnignan, A., Fernández, E., Da Silva, L. (2018). *Use of some Asteraceae plants for the treatment of wounds: from ethnopharmacological studies to scientific evidences*. *Pharmacol.* 9(1): 1-11. DOI: 10.3389/fphar.2018.00784
- Vargas, C. (2007). *Estudio de la actividad cicatrizante y antiinflamatorio del extracto alcohólico de las hojas de Senna reticulata (Willd) H. Irwin & Barneby (Retama)*, Facultad Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor De San Marcos.
- Veiga, V y Pinto, A. (2002). *El género Copaifera L.* química nova. 25(2): 1-10
- Wang, S., Su, X., Li, B., Liu, X., Liu, D., Pan, T., et al. (2017). *Wound-healing promoting effect of total tannins from Entada phaseoloides (L.) Merr. in rats*. *Burns*. 43(4). DOI: 10.1016/j.burns.2016.10.010
- Yaringaño, J. (2015). *Formulación de una crema dermocosmética a base de Mauritia flexuosa L.F. y Copaifera reticulata var. Peruviana con efecto regenerador de la piel lesionada en ratones Mus musculus BALB/c*. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## ANEXOS

Anexo A. Matriz de consistencia

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p><b>GENERAL</b> 1. ¿El extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel tendrá efecto cicatrizante en ratones albinos?</p> <p><b>ESPECÍFICOS</b> 1. ¿Qué concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel tendrá mejor efecto cicatrizante en ratones albino?</p> <p>2. ¿Tendrá efecto cicatrizante el extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel en forma significativa respecto al Cicatricure® en ratones albinos?</p>	<p><b>GENERAL</b> 1. Comprobar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) en ratones albinos</p> <p><b>ESPECÍFICOS</b> 1. Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel con mayor efecto cicatrizante en ratones albinos</p> <p>2. Determinar si el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel es significativo respecto al Cicatricure® en ratones albinos</p>	<p><b>GENERAL</b> 1. El extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel tiene efecto cicatrizante en ratones albinos</p> <p><b>ESPECÍFICAS</b> 1. La concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel que tiene mejor efecto cicatrizante en ratones albinos es de 15%</p> <p>2. El efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba) preparado en forma de gel es significativo respecto al Cicatricure® en ratones albinos</p>	<p><b>VI</b> Extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Copaiba)</p> <p><b>VD</b> Efecto cicatrizante</p>	<p>Fitoquímicos</p> <p>Concentración del gel</p> <p>Prueba de apertura de herida</p> <p>Vía de administración</p> <p>Cortes histológicos</p>	<p>Compuestos fenólicos, taninos, leucoantocianidinas, esteroides y/o triterpenoides, flavonoides, alcaloides, azúcares reductores, aminoácidos</p> <p>5% 10% 15%</p> <p>% de efecto cicatrizante</p> <p>Tópica</p> <p><b>Fibrosis Inflamación Neoangiogénesis Cicatrización</b></p>	<p><b>Enfoque:</b> Cuantitativo</p> <p><b>Tipo y diseño del estudio.</b> Experimental preclínico, aplicado y explicativo</p> <p><b>Técnica</b> Observación</p> <p><b>Instrumento</b> Ad hoc</p> <p><b>Población</b> 30 ratones albinos Planta de <i>Copaifera paupera</i> (Copaiba)</p> <p><b>Muestra</b> 5 grupos de 6 ratones cada uno Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Copaiba) preparado en forma de gel (EHHCP)</p> <p><b>Grupos experimentales</b> I) Control gel base II) GEHHCP 5% III) GEHHCP 10% IV) GEHHCP 15% V) Cicatricure®</p>

**Anexo B.** Instrumento de recolección de datos para medir la tensión del efecto cicatrizante del GEHHCP. en ratones albinos

Tratamiento	Grupo	Tensión
GEL BASE	1	
	1	
	1	
	1	
	1	
GEHHCP 5%	2	
	2	
	2	
	2	
	2	
GEHHCP 10%	3	
	3	
	3	
	3	
	3	
GEHHCP15%	4	
	4	
	4	
	4	
	4	
CICATRICURE	5	
	5	
	5	
	5	
	5	

GEHHCP=Gel a base del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog)  
Dwyr (Copaiba)

Instrumento de marcha fitoquímica para realizar estudio preliminar y reconocer metabolitos secundarios

<b>Reactivo</b>	<b>Constituyentes químicos</b>	<b>Resultado</b>
<b>1. Wagner</b>	<b>Alcaloides</b>	
<b>2. Popoff</b>	<b>Alcaloides</b>	
<b>3. Mayer</b>	<b>Alcaloide</b>	
<b>4. Dragendorff</b>	<b>Alcaloide</b>	
<b>5. Shinoda</b>	<b>Flavonoides</b>	
<b>6. Tricloruroférico</b>	<b>Compuestos</b>	
<b>7. Burchard</b>	<b>Esteroides y/o</b>	
<b>8. Ninhidrina</b>	<b>triterpenoides</b>	
<b>9. Fehling A y B</b>	<b>Aminoácidos libres</b>	
<b>10. Gelatina + NaCl</b>	<b>Azúcares reductores</b>	
<b>11. Molisch</b>	<b>Taninos</b>	
	<b>Glicósidos</b>	
<b>Leyenda: Presencia (+)</b>	<b>Ausencia (-)</b>	

Análisis de la marcha fitoquímica de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* "Copaiba". Fuente: Elaboración propia

## Instrumento de prueba de solubilidad

<b>Solvente</b>	<b>Solubilidad</b>
<b>1. Agua</b>	+
<b>2. Etanol</b>	++
<b>3. Metanol</b>	+++
<b>4. Cloroformo</b>	+++
<b>5. Acetona</b>	+++
<b>6. acetato</b>	+++

Fundamento: muy soluble +++, soluble ++, poco soluble +, insoluble -.

Fuente: Elaboración propia

**Anexo C.** Datos de prueba de tensión de apertura de herida

Tratamiento	Grupo	Tensión
GEL BASE	1	55
	1	54
	1	57
	1	61
	1	62
	1	63
GEHHCP 5%	2	61
	2	60
	2	69
	2	72
	2	72
	2	75
GEHHCP 10%	3	67
	3	69
	3	84
	3	85
	3	93
	3	95
GEHHCP15%	4	85
	4	112
	4	116
	4	117
	4	117
	4	117
CICATRICURE	5	76
	5	106
	5	110
	5	112
	5	113
	5	112

GEHHCP=Gel a base del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog)

Dwyr (Copaiba)

## Anexo D. cronograma del programa experimental

ACTIVIDADES	MESES																							
	Setiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre				Enero				Febrero			
	SEMANAS																							
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Identificación taxonómica	■																							
Obtención del extracto hidroalcohólico		■	■	■	■																			
Proceso de la marcha fitoquímica						■	■	■	■															
Prueba de solubilidad										■	■													
Preparación de gel												■												
Prueba de cicatrización													■	■	■									
Análisis de datos																■	■	■						
Resultados																		■	■					
Informe																					■	■	■	

**Anexo E.** Testimonios fotográficos del efecto cicatrizante de hojas de Copaiba



**Figura 12.** Recolección de hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) en la ciudad de Yurimaguas



**Figura 13.** Ratones albinos inducidos a heridas para evaluar el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba).



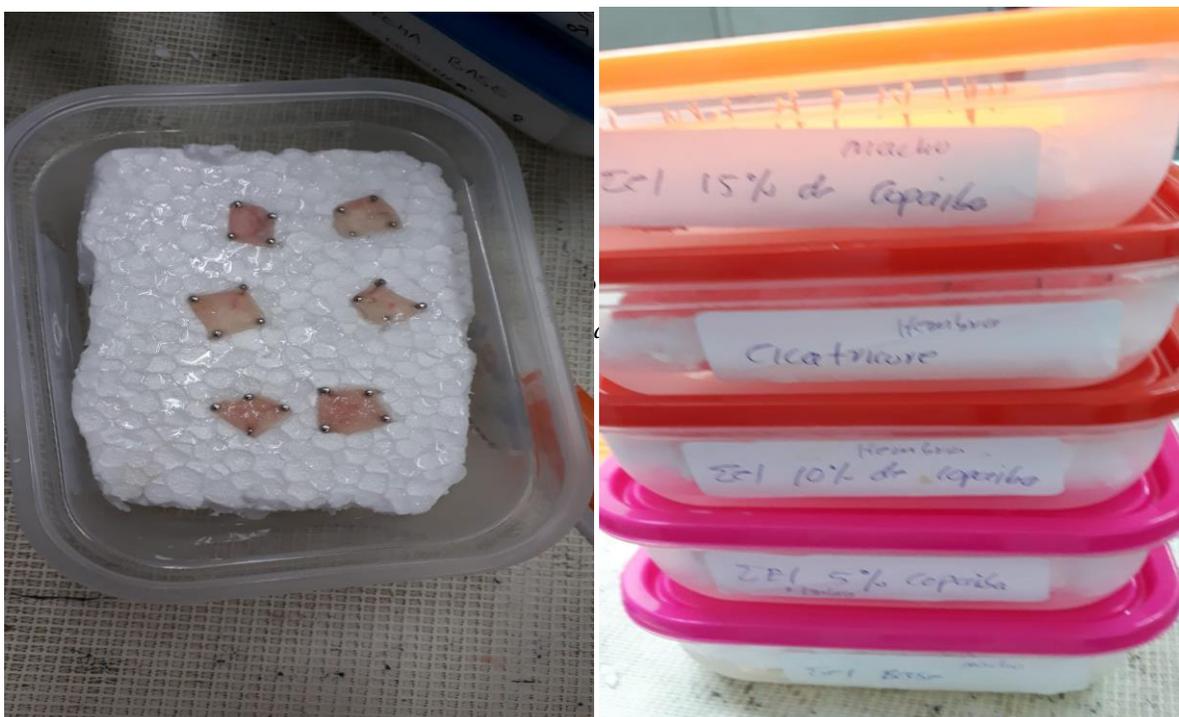
**Figura 14.** Elaboración del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba).



**Figura 15.** Aplicación de los tratamientos para evaluar el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)



**Figura 16.** Prueba de tensión de apertura de herida en el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)



**Figura 17.** Obtención de muestras de piel para estudio histológico en el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

### *Copaifera paupera* (copaiba)

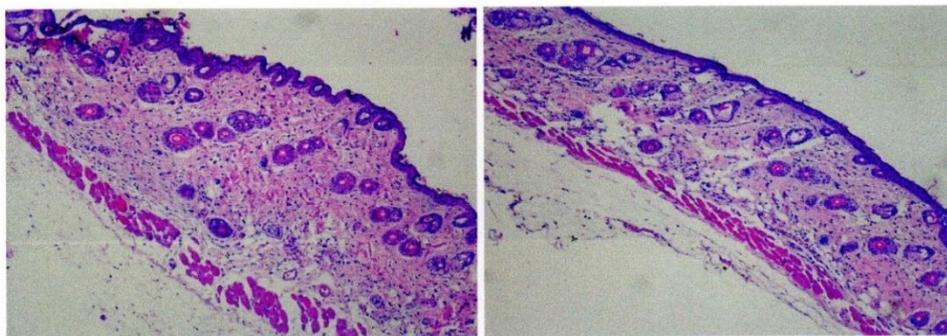
	INFLAMACION				FIBROSIS			
	NO	LEVE	MODERADO	SEVERO	NO	LEVE	MODERADO	SEVERO
GEL BASE		X				X		
GEHHC 5%			X			X		
GEHHC 10%		X				X		
GEHHC 15%		X					X	
CICATRICURE®		X				X		

	NEOANGIOGENESIS				ESTADIO CICATRIZACION			
	NO	LEVE	MODERADO	SEVERO	LEVE	MODERADO	SEVERO	VICIOSA
GEL BASE	X				X			
GEHHC 5%	X				X			
GEHHC 10%		X			X			
GEHHC 15%		X				X		
CICATRICURE®		X			X			

#### LAMINAS DE HISTOLOGIA

RATONES	CODIGO
GEL BASE	B1
GEHHC 5%	A3
GEHHC 10%	A4
GEHHC 15%	B4
CICATRICURE®	A5

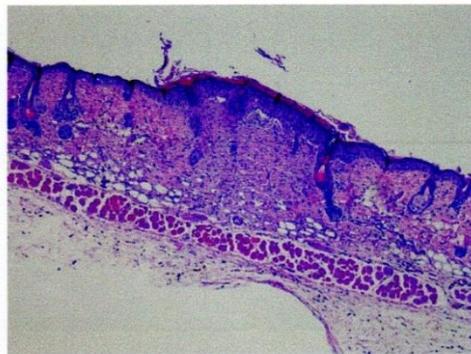
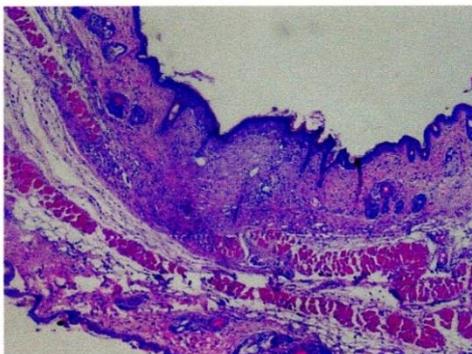
#### GEL BASE (B1)



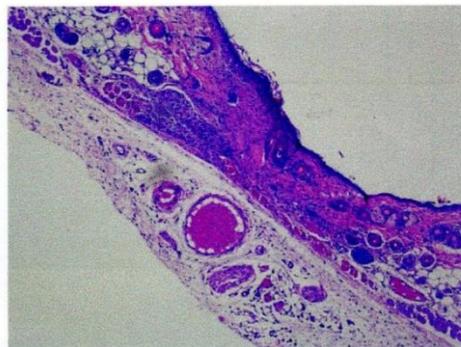
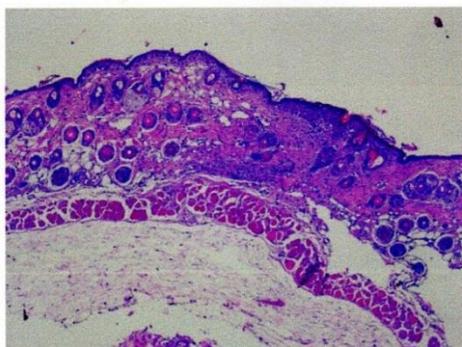
*Hipólito*  
 HIPOLITO JORGE VILCAPAZA ATAMAR  
 MEDICO ANATOMOPATOLOGO  
 CMP: 37954 RNE: 26550

**Figura 18.** Estudios estológicos de la piel.

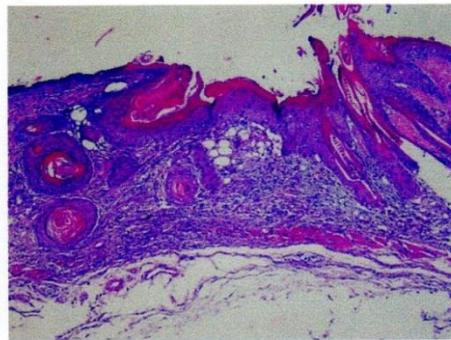
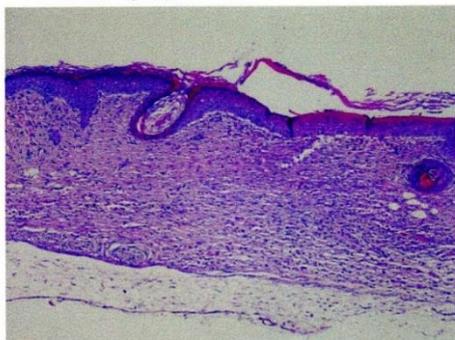
GEHHCP 5% (A3)



GEHHCP 10% (A4)



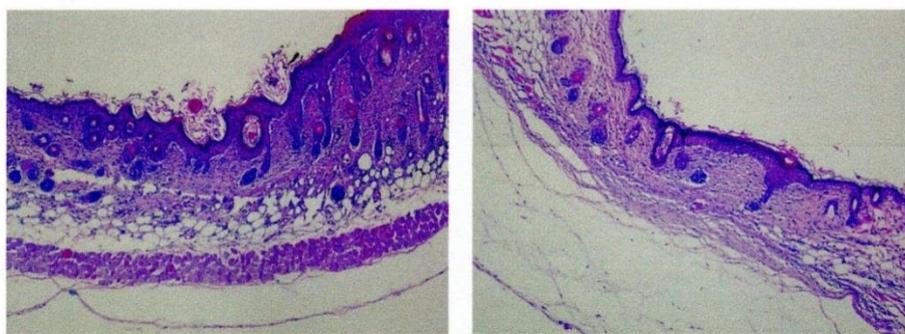
GEHHCP 15% (B-4)



  
HIPOLITO JORGE VILCAPAZA ATAMARI  
MÉDICO ANATOMOPATOLOGO  
CMP: 37954 RNE: 26550

Figura 19. Estudios estológicos de la piel

CICATRIZURE® (A5)



**CUADRO *Copaifera paupera* (copaiba)**

	INFLAMACION	FIBROSIS	NEOANGIOGENESIS	CICATRIZACION
GEHHCP 5%	PRESENTE	HASTA 50 % DE LA MUSCULAR	AUSENTE	ADECUADA
GEHHCP 10%	ESCASO	HASTA 50 % DE LA MUSCULAR	PRESENTE	ADECUADA
GEHHCP 15%	ESCASO	HASTA 90 % DE LA MUSCULAR	PRESENTE	ADECUADA

  
 HIPOLITO JORGE VILCAPAZA ATAMARI  
 MÉDICO ANATOMOPATOLOGO  
 CMP: 37954 RNE: 26550

**Figura 20.** Estudios estológicos de la piel.

## Anexo F: juicio de expertos

## Anexo F: juicio de expertos

**FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS**

## I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: SAM ZAVALA SILVANA  
 1.2 Grado académico: DOCTORA  
 1.3 Cargo e institución donde labora: DECANA -  
 1.4 Título de la Investigación: .....  
 1.5 Autor del instrumento: .....  
 1.6 Nombre del instrumento: .....

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61- 80%	Excelente 81-100%
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					85
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					82
3. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					81
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					81
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.				80	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					84
7. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.				79	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.				79	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio.					88
10. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					90
SUB TOTAL					238	591
TOTAL						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 82.90VALORACION CUALITATIVA: EXCELENTEOPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplorable

Lugar y fecha: .....

Firma y Posfirma del experto

DNI: 8.5697788

**Anexo G:** constancia de taxonomía de copaiba




**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



*"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"*

**CONSTANCIA N° 140-USM-2019**

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

La muestra vegetal (planta estéril) recibida de **Edgar Quispe Crispin**; estudiante de la Universidad Interamericana para el Desarrollo, ha sido estudiada y clasificada como: ***Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ROSIDAE**

**ORDEN: FBALES**

**FAMILIA: CAESALPINIACEAE**

**GENERO: *Copaifera***

**ESPECIE: *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer**

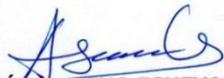
Nombre vulgar: "Copaiba"  
Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 08 de mayo de 2019

ACE/ddb



  
**Mag. ABUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA**  
 JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

**Anexo H:** certificado sanitario de ratones albinos

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

CERTIFICADO SANITARIO N° 301 - 2019

Producto	: Raton albino	Lote N°	: M-45-2019
Especie	: <i>Mus musculus</i>	Cantidad	: 25
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 1 mes ½
Peso	: 15 a 24 g.	Sexo	: macho (12) hembra (13)
Guías de remisión	: 038334	Destino	: Quispe Crispin, Edgar
Chorrillos	: 07 - 11 - 2019		

El Médico Veterinario, que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias \* .

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

Chorrillos, 07 de noviembre del 2019

(Fecha de emisión del certificado)

  
M.V. Arturo Rosales Fernández.  
C.M.V.P. 1586

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