

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA



**EFFECTO CICATRIZANTE DE LA CREMA A BASE DE CAQUI
(*Diospyros kaki* Thumb) EN CONEJOS ALBINOS NEW
ZEALAND**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico
Farmacéutico y Bioquímico

TESISTAS:

- **Bach. Medina Mamani, Melissa**
- **Bach. Rivera Escobar, Dessiree**

ASESOR:

Mg. Carlos Moisés Casana Vargas

Lima - Perú

2019

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a Dios, por ayudarnos en este maravilloso camino de formación profesional, por darnos la fuerza e iluminación en todo momento. A nuestros padres, Antonia, Agustín e Isabel, quienes nos han apoyado desde siempre, con su cariño, con sus ánimos, y han sido nuestros mejores paradigmas de esfuerzo constante. A nuestros amigos y colegas, Eva, Erick, Daniel, Joseph, Víctor, cuyos amplios conocimientos y experiencias, contribuyeron con éxito en la elaboración de este humilde trabajo, el cual queremos compartir con mucho cariño, con todas las personas que nos brinden el privilegio de ser nuestros lectores. A todos ellos les estaremos eternamente agradecidas.

Dessiree y Melissa

AGRADECIMIENTO

Con mucho orgullo, agradecemos a nuestra alma máter, **Universidad Inca Garcilaso de la Vega**, por darnos la oportunidad de cultivar nuestras habilidades y capacidades, para adquirir nuevos conocimientos, ergo, formarnos profesionalmente como personas íntegras, con el amplio compromiso de ser parte de los profesionales de salud del Perú, al servicio de nuestra comunidad; así mismo a todos los docentes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, que durante nuestra vida estudiantil nos aportaron su sabiduría y conocimientos pedagógico-científicos, confiamos que sigan impartiendo sus amplios conocimientos a nuestros futuros colegas con total éxito.

A nuestro asesor de Tesis Mg. Carlos Casana Vargas, por su valioso apoyo, tiempo, orientación, generosidad, para desarrollar y culminar el presente trabajo con éxito.

A todos nuestros amigos por su amistad, y por formar parte de nuestra experiencia en esta espléndida etapa de pregrado, por ser parte de nuestro soporte y acompañarnos durante toda la carrera profesional, mil gracias.

Dessiree y Melissa

Índice

Acta de sustentación

Dedicatoria

Agradecimiento

Abreviaturas

Índice de Tablas

Índice de figuras

Índice de anexos

Resumen

Abstract

Índice de tablas

Tabla 1.	Composición química según estudios realizados	19
Tabla 2.	Composición de Aminoácidos de la Proteína del <i>Diospyros Kaki Thumb</i>	21
Tabla 3.	Factores de crecimiento e interleucinas en cicatrización	5
Tabla 4.	Crema base más utilizada	43
Tabla 5.	Cantidad de Principio Activo usado en la crema cicatrizante	43
Tabla 6.	Operacionalización de variables	48
Tabla 7.	Cantidad de conejos por grupos	55
Tabla 8.	Identificación de metabolitos secundarios	63
Tabla 9.	Identificación de metabolitos primarios	63
Tabla 10.	Prueba de Solubilidad	64
Tabla 11.	Preparación de Crema cicatrizante a base de <i>Diospyros kaki Thumb</i>	68
Tabla 12.	Formulación en base a Cantidad de Principio Activo	69
Tabla 13.	Fórmula unitaria 1 (Crema base, Control Negativo)	70
Tabla 14.	Fórmula unitaria 2 (Crema a base de <i>Diospyros kaki Thumb</i> 10%)	70

Tabla 15.	Fórmula unitaria 4 (Crema a base <i>Diospyros kaki Thumb</i> 15%)	71
Tabla 16.	Fórmula unitaria 3 (Crema a base de <i>Diospyros kaki Thumb</i> 20%)	71
Tabla 17.	Tratamientos de experimentación con " <i>Diospyros kaki Thumb</i> "	72
Tabla 18.	Exigencias y condiciones de los animales de experimentación	74
Tabla 19.	Tiempos de absorción de las diferentes formulaciones de la crema	78
Tabla 20.	Tiempos de absorción de las diferentes formulaciones de la crema <i>Diospyros kaki Thumb</i> en los conejos de experimentación	79
Tabla 21.	Análisis de la distribución de los tiempos de aplicación de cada formulación de la crema	82
Tabla 22.	Prueba de ANOVA para determinar el Tiempo de aplicación	83
Tabla 23.	Prueba de Tukey para determinar el Tiempo de aplicación cada 2 horas	83
Tabla 24.	Análisis de la distribución de los tiempos de aplicación de cada formulación de la crema	84
Tabla 25.	Prueba de ANOVA para determinar el Tiempo de aplicación	85
Tabla 26.	Prueba de Tukey para determinar el Tiempo de aplicación cada 2 horas	86
Tabla 27.	Prueba de Tukey para determinar el Tiempo de aplicación cada 4 horas	87
Tabla 28.	Prueba de Tukey para determinar el Tiempo de aplicación cada 12 horas	88
Tabla 29.	Prueba de Tukey para determinar el Tiempo de aplicación cada 24 horas	89
Tabla 30.	Promedio de los tiempos de absorción de la aplicación de las formulaciones de la crema en conejos.	91
Tabla 31.	Distribución de los efectos de las formulaciones según tiempo de aplicación en conejos.	94

Índice de figuras

Figura 1. Industria Cosmética a base de productos naturales.	4
Figura 2. Caqui	18
Figura 3. Métodos de Extracción	24
Figura 4. Diferencias entre emulsiones O/W y W/O	40
Figura 5. Gráfica de las medias del tiempo de aplicación cada 2 horas por cada formulación.	86
Figura 6. Gráfica de las medias del tiempo de aplicación cada 4 horas por cada formulación.	88
Figura 7. Gráfica de las medias del tiempo de aplicación cada 12 horas por cada formulación.	89
Figura 8. Gráfica de las medias del tiempo de aplicación cada 24 horas por cada formulación.	90
Figura 9. Gráfica de los promedios de los tiempos de absorción de la aplicación de Las formulaciones de la crema en Conejos	91
Figura 10. Gráfico de caja y bigotes de las formulaciones según la aplicación cada 2 horas en Conejos	95
Figura 11. Gráfico de caja y bigotes de las formulaciones según la aplicación cada 4 horas en Conejos	95
Figura 12. Gráfico de caja y bigotes de las formulaciones según la aplicación cada 12 horas en Conejos	96
Figura 13. Gráfico de caja y bigotes de las formulaciones según la aplicación cada 24 horas en Conejos	96

Índice de anexos

Anexo 1: Fotos descriptivas de experimentación y trabajo de campo	105-129
Anexo 2: Ficha de evaluación de cicatrización de piel de conejo	130
Anexo 3: Certificado de Sanidad de Conejos albinos de experimentación New Zealand.	131
Anexo 4: Constancia de uso de laboratorio de Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia	132
Anexo 5: Constancia de Taxonomía de fruto Diospyros kaki Thumb	133
Anexo 6: Presupuesto	134

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación, se evaluó el efecto cicatrizante de la crema a base de “caqui” (*Diospyros kaki* Thunb) procedente Huaral, provincia centro-occidental del Departamento de Lima - Perú. A partir de un extracto alcohólico de *Diospyros kaki* Thunb, se determinó la presencia de metabolitos secundarios, mediante un screening fitoquímico; en el cual, se encontró la presencia de antocianinas, mucilagos, taninos y flavonoides. Para la investigación farmacológica tópica, se preparó una crema base, a la que se le añadió el extracto acuoso al 20 por ciento en *Diospyros kaki* Thunb, como control se utilizó un gel hidratante y humectante para cicatrices, “Cicatricure”. Para aplicar la crema se usó el modelo biológico (conejo, *Oryctolagus cuniculus*, de la cepa New Zealand de 2 Kg) mediante la técnica del raspado. En las condiciones experimentales realizadas, se demostró que la crema a base “caqui” posee efecto cicatrizante, además se evidenció que la mezcla de la formulación presentó un mejor comportamiento cicatrizante a lo largo de todos los momentos de tiempo comparado con el control positivo. No se observó reacción alérgica en la piel de los modelos experimentales evaluados. Para la frecuencia del tratamiento se evidenció que el tiempo de aplicación cada 4 horas, presentó el menor tiempo de absorción en la aplicación de la formulación de la mezcla, con un intervalo de 1.90 minutos. Para la absorbilidad, se usó la prueba de Kruskal Walls y se observó un valor de 3.5.

Palabras Clave: *Diospyros kaki* Thunb (Caqui); screening fitoquímico; Efecto cicatrizante; Cicatrización.

Abstract

In the present research work, the healing effect of the cream based on "persimmon" (*Diospyros kaki* Thunb) from Huaral, central-western province of the Department of Lima - Peru was evaluated. From an alcoholic extract of *Diospyros kaki* Thunb, the presence of secondary metabolites was determined by means of a phytochemical screening; in which, the presence of anthocyanins, mucilages, tannins and flavonoids was found. For the topical pharmacological research, a base cream was prepared, to which was added the 20% aqueous extract in *Diospyros kaki* Thunb, as a control a moisturizing and moisturizing gel for scars was used, "Cicatricure". To assess the cream, the biological model (rabbit auxiliaries, O contabilidadcto introducción cuniculus, infección explicar Shop) of the New Zealand strain of 2 Kg pricing was done by unctonal desafío. In the experimental conditions carried out, it was demonstrated that the "khaki-based" cream has a healing effect, and it was also shown that the mixture of the formulation showed a better healing behavior throughout all the moments of time compared with the positive control. No allergic skin reaction was observed in the experimental models evaluated. For the frequency of the treatment it was evidenced that the application time every 4 hours, had the shortest absorption time in the application of the formulation of the mixture, with an interval of 1.90 minutes. For absorbability, the Kruskal Walls test was used and a value of 3.5 was observed.

Palabras Clave: *Diospyros kaki* Thunb (Persimmon); phytochemical screening; Healing effect; Cicatrization.

	Página
Introducción	1-2
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
1.1 Descripción de la realidad problemática	3-6
1.2 Formulación del problema	6
1.2.1 Problema general	
1.2.2 Problemas específicos	
1.3 Objetivos	7
1.3.1 Objetivo general	
1.3.2 Objetivos específicos	
1.4 Justificación e importancia del estudio	7-8
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	9
2.1 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO	
2.1.1 Nacionales	9-11
2.1.2 Internacionales	11-14
2.2 Bases teóricas	14
2.2.1 Plantas medicinales	14
2.2.2 Diospyros kaki Thumb (Caqui)	15
2.2.2.1 Clasificación taxonómica	16
2.2.2.2 Descripción botánica	16
2.2.2.3 Hábitat	17
2.2.2.4 Composición química	18
2.2.2.5 Valor nutricional	19-21
2.2.2.6 Usos	21-22

2.2.2.7 Acción farmacológica	22-23
2.2.3 Tamizaje Fitoquímico	23
2.2.4 Métodos de extracción	24
2.2.4.1 Maceración	24-25
2.2.5 Efecto cicatrizante en la piel	26
2.2.5.1 La piel	26-27
2.2.5.2 Estructura de la piel	27-28
2.2.5.3 Hidratación cutánea	28-29
2.2.5.4 Herida	29-30
2.2.5.5 Factores que producen cicatrización	30-31
2.2.6 Fisiología de la cicatrización	31-39
2.2.7 Crema cosmética	40
2.2.8 Crema cicatrizante	41-42
2.2.9 Formulación de crema cutánea cicatrizante	42-44
2.2.10 Ensayos farmacológicos	44-46
2.3 Formulación de Hipótesis	46
2.3.1 Hipótesis general	46
2.3.2 Hipótesis específicas	46
2.4 Variables	47-48
2.5 Marco conceptual	49-52
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	
3.1. Tipo de estudio	53
3.1.1 Según el nivel de conocimiento científico	53

3.1.2 Según la planificación de toma de datos	53
3.2 Diseño del estudio	54
3.3 Población	54-55
3.4 Muestra	55
3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	55
3.5.1 Instrumento	55-56
3.5.2 Equipos	56
3.5.3 Reactivos	56
3.5.4 Materiales de laboratorio	56
3.5.5 Material biológico y vegetal	56
3.6 Procedimiento experimental	57
3.6.1 Recolección de la muestra	57
3.6.2 Selección del fruto	57
3.6.3 Identificación- Clasificación sistemática	57
3.6.4 Tratamiento de la muestra	58
3.6.5 Obtención del extracto	58
3.6.6 Maceración	58
3.6.7 Screening fitoquímico	59
3.6.8 Pruebas para metabolitos secundarios	59
3.6.8.1 Prueba para alcaloides	59-60
3.6.8.2 Prueba para flavonoides y compuestos fenólicos	60-61
3.6.8.3 Reactivos formados por poliácidos minerales complejos	61
3.6.8.4 Otros reactivos de precipitación	62
3.6.9 Pruebas para metabolitos primarios	62
3.6.9.1 Prueba para glúcidos	62
3.6.9.2 Prueba para almidón	62-63
3.7 Prueba de solubilidad	64

3.8 Prueba Cromatografía en capa fina	65
3.8.1 Cromatografía en capa fina (Alcaloides)	65-66
3.8.1 Cromatografía en capa fina (Flavonoides)	66
3.9 Prueba de Espectrofotometría en el UV-vis para la cuantificación de flavonoides totales	66
3.9.1 Método de Flavonoides totales	66-67
3.10 Procedimiento experimental (etapa II)	67-68
3.10.1 Preparación de la crema en base a <i>Diospyros kaki</i> Thumb	68-69
3.10.2 Determinación toxicidad aguda dermal	69
3.10.3 Animales de experimentación	69
3.10.4 Dosificación y tratamiento	70-71
3.11 Evaluación de la actividad cicatrizante con el modelo De heridas incisas	72
3.12 Animales de experimentación	72
3.13 Fase de campo	73-74
3.14 Fase de laboratorio	75
3.14.1 Aplicación de la crema en base a <i>Diospyros kaki</i> Thumb	75
3.15 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	75-76
3.16 Procesamiento de datos	76
3.16.1 Prueba estadística	77-78
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	79
4.1 Presentación de resultados	79
4.2 Contrastación de hipótesis	79
4.2.1 Contrastación de hipótesis específicas	79-80
4.2.2 Contrastación de hipótesis específicas 2	81-90

4.2.3 Contrastación de hipótesis específicas 3	91-92
4.2.4 Contrastación de hipótesis específicas 4	92-97
4.3 Discusión de resultados	97-98
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
5.1 Conclusiones	99
5.2 Recomendaciones	100
Bibliografía	101-105

INTRODUCCION

Las heridas crónicas y no cicatrizadas representan una elevada incidencia en la población a nivel mundial. La cicatrización es un proceso de restauración que consiste en la superposición de eventos que involucran la respuesta inflamatoria, regeneración de la epidermis, contracción de la herida, finalmente, formación del tejido conectivo y remodelación. El tratamiento apropiado de la herida acelera el proceso de cicatrización y previene la infección y cronicidad de este.¹

Cada etapa del proceso de cicatrización está orientada por la expresión de proteínas que controlan los patrones del ciclo celular. El éxito del proceso depende entonces de factores de crecimiento, los que son polipéptidos biológicamente activos que actúan para alterar el crecimiento, la diferenciación y el metabolismo de una célula diana.² Destacan por su actividad en el proceso de cicatrización el Factor de Crecimiento derivado de Plaquetas (PDGF) que se libera en la fase inflamatoria, el Factor de Crecimiento de Fibroblastos (FGF) y el Factor de Crecimiento Epidermal (EGF), los que intervienen en la fase de proliferación celular³.

Varios productos vegetales se han utilizado en el tratamiento de heridas, a través de los años. Los extractos de hierbas promueven la coagulación de la sangre, combaten la infección y aceleran la curación de heridas. El valor medicinal de estas plantas radica en los constituyentes fitoquímicos bioactivos.⁴ Estos componentes incluyen diversas familias químicas como alcaloides, aceites esenciales, flavonoides, taninos, terpenoides, saponinas, y compuestos fenólicos. Además de estos componentes las plantas son las principales fuentes de péptidos. Los péptidos son moléculas de proteínas de menos de 10 k Da; pueden existir de forma natural o ser derivados de secuencias de proteínas nativas.⁵

En los últimos años, una amplia evidencia científica ha previsto la existencia de péptidos activos biológicos y proteínas derivadas de plantas que podrían tener efectos beneficiosos sobre la salud humana.⁶

En base a este criterio, en este trabajo evaluamos los metabolitos secundarios, así como el efecto cicatrizante de *Diospyros kaki* Thumb, el cual presenta taninos en

abundancia, que le otorga el sabor áspero cuando están verdes, estos flavonoides polifenólicos, presentan múltiples beneficios, entre ellos la posibilidad de ser cicatrizante, la evaluación fisicoquímica, por screening fitoquímico del extracto acuoso obtenido por reflujo, así como por espectroscopia UV-Vis, evidenció la presencia en mayor proporción de flavonoides. Para evaluar la capacidad cicatrizante se usó modelos biológicos vivos (conejos New Zealand), en los que inicialmente se realizó una prueba de hipoalergenicidad. Este trabajo de investigación se pretende comprobar y demostrar el efecto cicatrizante, mediante el empleo de una crema diseñada en base a la fruta Caqui (***Diospyros kaki*** Thumb) experimentado en conejos de la cepa New Zealand, el cual redundó en una excelente cicatrización de las heridas, sin secuelas tipo queloides en la piel.

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

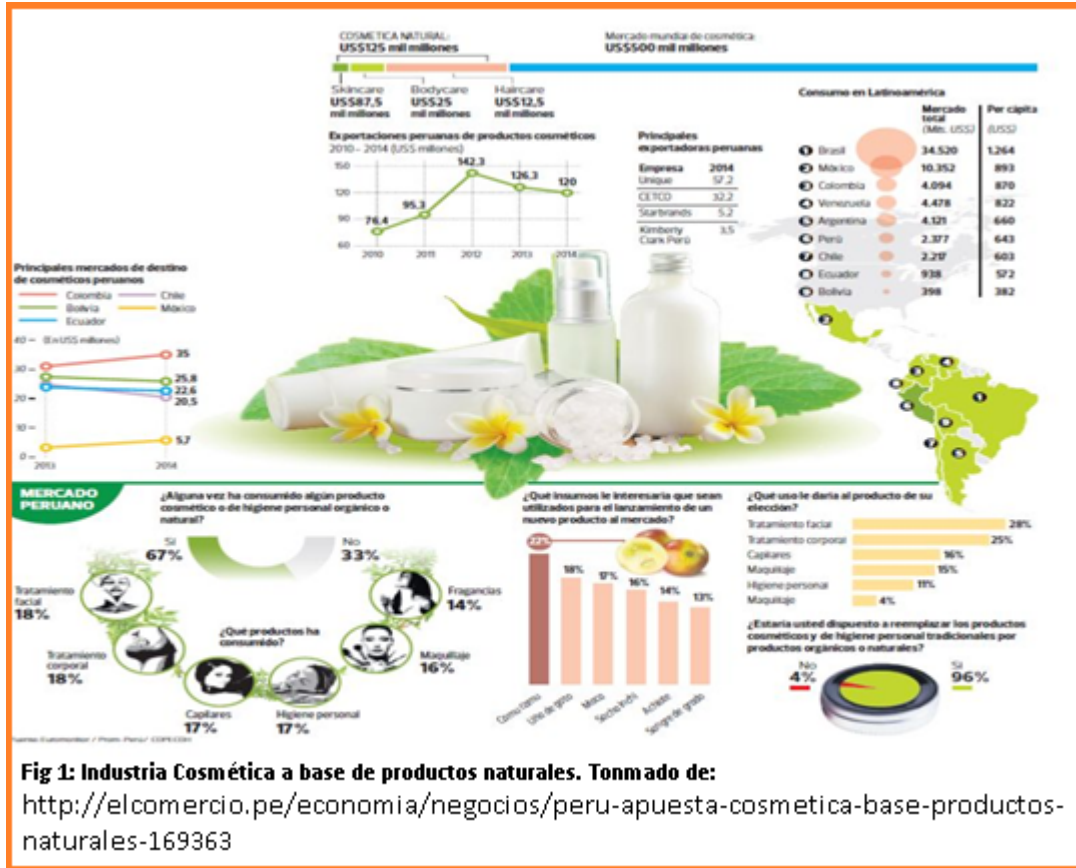
1.1. Descripción de la realidad problemática

Desde la antigüedad eran utilizadas las plantas en tratamientos de enfermedades con más frecuencia en procesos dermatológicos. Existen precedentes desde el 2600 A.C. en la tumba de la reina Shub – Ad*, donde se encontraron útiles de cuidado y de belleza, se podría decir que la industria cosmética se encontraba en fase excipiente, el personal médico no se encontraba al alcance de todas las personas, que vivían en lugares lejanos, es así que buscan alternativas de profilaxis y aprovechan los beneficios anexos al uso de las plantas. No obstante, esta costumbre decayó, con el avance farmacológico en el campo médico y con ello el uso de las plantas medicinales como primera opción de terapia curativa ¹⁰.

De acuerdo al psiquiatra Pablo Gonzáles, jefe de salud mental del Hospital del Trabajador ACHS, y la psicóloga Carmen Gloria Carbonell, el impacto que representa una cicatriz en las personas, va más allá de una simple marca externa, en vista a que en ocasiones, existe un daño psicológico grave que trasciende, el cual, puede impactar, en la autoestima de las personas que presentan una cicatriz notoria, sobre todo si es en el rostro, el cual es acompañado de problemas de inseguridad, tristeza, ansiedad, alteraciones de sueño y temor a socializar con otras personas.⁷

La proyección realizada para el 2018 en el sector cosmético e higiene personal fue de alrededor S/.7000 millones en el mercado peruano, incluso luego de afrontar las crisis naturales, esta versión fue considerada en base a los análisis realizados de manera conjunta entre el Comité Peruano de Cosmética e Higiene Personal (COPECOH) y la Cámara de Comercio de Lima (CCL). En el 2016, el crecimiento de la categoría de Tratamiento Corporal e Higiene fue de 4%.⁸

Una encuesta realizada por la COPECOH evidencia que el 96% de personas encuestadas en Perú están dispuestas a usar productos basados en productos naturales.⁹ (Ver Figura 1).



La cicatrización cutánea, es la cantidad de tejido suficiente que contiene la piel, de las cuales existen diferentes mecanismos naturales que contribuyen a mantener un balance óptimo de tejido y el mantenimiento de una piel sana e hidratada¹. El mantenimiento adecuado de hidratación es importante desde el punto de vista estético como funcional, protegiendo a la piel de agentes externos nocivos y amortiguando frente a agresiones mecánicas⁹.

La cicatrización, se expresa debido a que el tejido y el agua de la capa cornea oscilan por debajo del 10%, logrando que la piel pierda elasticidad y se vuelva frágil y áspera convirtiéndose en una piel seca, apagada y sin luminosidad⁹.

Un gran porcentaje de la población sufre problemas de cicatrización y sequedad cutánea, afectando principalmente a niños menores de 10 años y a personas

mayores a partir de 60 años ¹. En relación con el género, las mujeres están más predispuestas que los hombres a padecer de piel seca ⁹.

Los mecanismos naturales de cicatrización no son suficientes para mantener un grado adecuado de cicatrización e hidratación cutánea y se hace necesaria la utilización de agentes hidratantes externos, como por ejemplo un tratamiento cosmético hidratante ¹. Desde los primeros registros de las actividades humanas, ya se encuentran datos y recetas de mezclas que, tanto hombres como mujeres, se colocaban en el cuerpo para hidratar sus pieles ¹⁰.

En el Perú, se evidenció el uso de las plantas medicinales, desde la época preincaica, aprovechando la gran diversidad biológica que nos ofrece la sierra y la selva, pero en forma rudimentaria, es así como diversas empresas nacionales e internacionales, han desarrollado procedimientos y sistemas que normalizan la elaboración de estos productos, actualmente regulados por ejemplo a nivel nacional por DIGEMID¹¹.

En la actualidad, se están manejando nuevos procedimientos que buscan defender y proteger los recursos naturales, así como la salud del ser humano, como base fundamental de toda investigación. A lo largo del tiempo, se ha extendido la necesidad de consumir productos naturales, de bajo costo y con eficacia comprobada ¹². Con el avance científico, se le han atribuido al **caqui, *Diospyros kaki*** Thumb, mayores beneficios para el ser humano, pues tiene propiedades destinadas al mejoramiento y conservación del organismo; por su uso popular, utilizadas con fines medicinales, y qué sirven realmente para ser usadas en afecciones de la piel.

A consecuencia de la presencia de los metabolitos secundarios, presentes en la fruta ***Diospyros kaki*** Thumb, se desarrolló una fórmula viable, que cumplió con los requisitos básicos de aquel sector de la población, que desean contar con un

producto natural, de calidad, inocuo, seguro, eficaz, con un comprobado efecto cicatrizante y que pueda estar al alcance de sus manos.

Por lo expuesto, se decidió desarrollar esta tesis, en el cual se determina la dosis, el tiempo y la frecuencia de aplicación de la crema a base de Caqui, ***Diospyros kaki*** Thumb, como una alternativa para mejorar la cicatrización e hidratación a nivel de la epidermis de la piel, y así aprovechar sus propiedades naturales curativas.

1.2 Formulación del problema

En la actualidad, se ha buscado crear alternativas naturales en Perú y debido a que no existe una industria enfocada en elaborar cremas cicatrizantes a base de ***Diospyros kaki*** Thumb (Caqui), elaborado íntegramente con ingredientes naturales orgánicos, decidimos realizar la presente investigación. De forma casera, se ha encontrado el efecto cicatrizante e hidratante en la piel, del fruto de la planta ***Diospyros kaki*** Thumb (Caqui) e incluso en investigaciones de cremas a base de dicha planta, se ha concluido que cuenta con otros efectos fitoterapéuticos.

1.2.1 Problema General

¿De qué manera una crema a base caqui (***Diospyros kaki*** Thumb) influye en el efecto cicatrizante en conejos albinos, en el periodo de Julio 2018 a octubre 2018?

1.2.2 Problemas Específicos

- 1) ¿De qué manera la concentración de la crema a base de caqui (***Diospyros kaki*** Thumb) influye en el efecto cicatrizante en conejos albinos, en el periodo Agosto del 2017 a diciembre del 2018?
- 2) ¿De qué manera el tiempo de aplicación de la crema a base de caqui (***Diospyros kaki*** Thumb) influye en el efecto cicatrizante en conejos albinos, en el periodo Agosto del 2017 a diciembre del 2018?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Determinar, si la crema a base de caqui (*Diospyros kaki* Thumb) presenta efecto cicatrizante en conejos albinos, en el periodo Agosto del 2017 a diciembre del 2018.

1.3.2 Objetivos Especificos

1) Determinar si la concentración de la crema a base de caqui (*Diospyros kaki* Thumb) influye en el efecto cicatrizante en conejos albinos, en el periodo Agosto del 2017 a diciembre del 2018.

2) Determinar si el tiempo de aplicación de la crema a base de caqui (*Diospyros kaki* Thumb) influye en el efecto cicatrizante en conejos albinos, en el periodo Agosto del 2017 a diciembre del 2018.

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

En el mundo, debido a factores exógenos como sol, viento, luz, radiación UV y la contaminación ambiental, y los accidentes se han incrementado las infecciones de la piel (cicatriz) en las personas; generando un ambiente insano y la utilización de cremas formuladas con excipientes de síntesis química, lo que ha producido reacciones alérgicas, manchas y otros problemas dermatológicos, como infecciones, irritaciones y, aún, en ciertos casos, tumores a la piel, por lo que se hace cada vez más necesaria la elaboración de productos orgánicos que los sustituya⁹.

En el mercado existen algunas cremas cicatrizantes, pero los costos son elevados, debido a que estos productos son importados; es por ello que se consideró diseñar una fórmula factible, para elaborar un producto de similares características utilizando materia prima de origen natural.

El ***Diospyros kaki*** Thumb, tiene varios efectos comprobados, por ejemplo, tiene efecto cicatrizante, antioxidante y regenerador celular, los cuales en conjunto producen hidratación y tersura en la piel; por las bondades probadas de dicha planta y por sus propiedades curativas e hidratantes. Por ello, se propone elaborar una crema corporal a partir del extracto de la fruta de ***Diospyros kaki*** Thumb; cuya finalidad será la de ayudar a cicatrizar la piel dañada; con la previsión de ser un producto viable y económico. Por lo tanto, se analizó el efecto cicatrizante en animales de experimentación (*Oryctolagus cuniculus* de la cepa New Zealand).

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del Estudio

Se investigó un grupo de fuentes y se encontraron algunas tesis similares; más internacionales que nacionales, el estudio de esta planta en Perú se ha enfocado en otras propiedades, obviando el efecto cicatrizante e hidratante, debido probablemente a que dicha planta no es nativa del país. Las fuentes investigadas, son las siguientes:

2.1.1 Nacionales

Yaringaño J.M. (2015)¹³; en su investigación “Formulación de una crema a base de *Mauritia flexuosa* L, f. y *Copaifera reticulada* var. Peruaviana, con efecto regenerador de la piel lesionada en ratones *Mus musculus* Balb. C”. Comprobó que “La crema dermo-cosmética a base de las plantas tiene efecto regenerador en piel lesionada de ratones; evaluó las propiedades físico-químicas del aceite de aguaje y la oleoresina de copaiba; luego diseñó tres formulaciones: crema a base de aceite de aguaje, crema a base de oleoresina de copaiba y una mezcla de ambas, en las cuales realizaron estudios de estabilidad acelerada a la temperatura de 40 °C y 50 °C durante 120 días teniendo como parámetros análisis organolépticos, fisicoquímicos y carga microbiológica total. El efecto regenerador de la piel lesionada de la crema dermocosmética, fue evaluada mediante el método tensiométrico y corroborado por estudios histológicos. Empleó ratones *Mus musculus* Balb c de $33 \pm 2.7g$ de peso y como tratamientos, las cremas dermocosmética a base de aguaje al 8%, copaiba al 10% y una mezcla de ambas a las mismas concentraciones mencionadas, comparando los resultados con el grupo control y con el grupo tratado con una crema comercial Cicalfate. Obtuvo mayor efecto regenerador de la piel lesionada con la crema dermocosmética a base de aguaje y copaiba comprobada por presentar mayor porcentaje de cicatrización 57.4%, el cual lo corroboró mediante el estudio histológico de la piel regenerada,

donde observó inicios de reepitelización, tejido de granulación y aumento de colágeno en la dermis.

Guevara M. (2011)¹⁴; en su trabajo de investigación “Determinación de la actividad regeneradora en eritema solar de un gel cosmético a base del extracto de diclorometano de flores de *Iresine weberbaueri* (flor blanca)”. Fue evaluada “mediante un estudio biológico como el Bioensayo, donde con los extractos obtenidos, con una concentración de 15% en propilenglicol, por vía dérmica, determinó que el extracto de diclorometano fue más activo para la evaluación clínica como en el reporte histológico. Iniciaron con un screening fitoquímico del extracto etanólico de las flores de *Iresine weberbaueri* reportando la presencia de metabolitos secundarios como: taninos, flavonoides, alcaloides, glicósidos y compuestos fenólicos; luego realizaron la partición del extracto etanólico con solventes de diferente polaridad: n-hex, diclorometano, metanol y acuoso. Con los extractos obtenidos, formuló el gel cosmético y fueron estudiados mediante el bioensayo para evaluar el efecto regenerador en eritema solar, con una concentración de 15 %, en una base de gel constituida de agua, extracto, trietanolamina, carbopol 940, metilparabeno y propilparabeno, por vía dérmica, determinándose que el gel a base del extracto de diclorometano fue el más efectivo. Finalmente, realizó una comparación entre el gel a base del extracto de diclorometano frente al efecto presentado por el gel cosmético “after sun”, los cuales presentaron un resultado similar en cuanto al reporte histológico; realizó ensayos fisicoquímicos para determinar sus características, por ejemplo resaltó la consistencia viscosa, con color natural otorgado por el extracto, el valor de pH resultó 6.5, la viscosidad fue de 61 000 cP., y finalmente realizó ensayos microbiológicos, para determinar la carga bacteriana total.

Huari E y De la Cruz L (2017)¹⁵; en su investigación “Efecto terapéutico del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. chupasangre, en forma de crema farmacéutica”. Menciona que “los metabolitos secundarios encontrados fueron: flavonoides, alcaloides, taninos, saponinas, fenoles, glucósidos y otros. Evaluaron el efecto contra la inflamación y su actividad en las cicatrices en 3 grupos poblacionales (contusiones leves, contusiones moderadas y heridas leves

cerradas) de 20 a 50 años de edad, de ambos sexos, los cuales lo subdividieron en grupos experimentales y controles, en el Centro de Salud Ganimedes DISA IV Lima Este – MINSA del distrito de San Juan de Lurigancho. Evaluaron el estado general para un diagnóstico médico; para luego iniciar el uso tópico por medio de controles de observación y medición de la zona afectada hasta su completa recuperación. Los datos lo procesaron mediante el análisis ANOVA, Tukey y análisis de varianza, dándoles como resultado que las cremas al 3 y 5% mostraron buen efecto antiinflamatorio (contusiones leves y contusiones moderadas) y regular efecto cicatrizante (heridas leves cerradas), mientras, que la crema al 1 % no tuvo efecto. Además, la crema al 5 % fue sometida a estabilidad acelerada a una temperatura de 40 °C durante 90 días teniendo como parámetros los análisis organolépticos, fisicoquímicos y carga microbiológica total; obteniendo como resultado una crema estable y que cumple con los criterios de aceptación”.

2.1.2 Internacionales

Cobos D. B. (2015) ¹⁶; en su tesis “Elaboración de una crema nutritiva facial a base de la pulpa de Chirimoya *Annona cherimola*, *Annonaceae*”. Menciona que “formularon tres cremas en las que se varían las materias primas y la concentración de pulpa 2%; 5%; 8% para lograr una formulación adecuada y de esa evaluar su eficacia. La pulpa de chirimoya al 5% dentro de la formulación unitaria 1, que seleccionó, debido a que presenta menos cambios físicos, en comparación con las demás formulaciones, ello le permitió continuar con el estudio de compatibilidad cutánea (Patch test) en 30 voluntarios, dando un Índice de Irritación Primaria Cutánea (IPC) igual a cero, por lo que la crema fue bien tolerada. Comprobó el poder de humectación, evaluando la eficacia del producto en los mismos voluntarios en dos tiempos posteriores a la aplicación de la crema: 2 horas y 24 horas, por medio del método no invasivo utilizando el equipo Cronómetro. Comprobó que la crema elaborada a base de pulpa de chirimoya proporciona a la piel propiedades nutritivas y humectantes altamente significativas debido a los metabolitos secundarios que esta presenta, por lo tanto, según sus resultados y al análisis estadístico cumplió con las propiedades deseadas y con los índices de calidad”.

Rojas M. (2014) ¹⁷; en su proyecto de investigación “Elaboración de una crema hidratante a base de pepino *Cucumis sativus* y cola de caballo *Equisetum arvense* y el estudio de su eficacia”. Fue evaluado “mediante análisis preclínico y clínico aplicando investigación de tipo cuasi-experimental. Su resultado evaluó que el fruto de pepino y las hojas de cola de caballo tienen igual presentación en forma (polvo fino), textura (homogénea), color (verde marrón), olor (característico a la planta) en la cual varía es en su sabor, pepino ligeramente dulce, y cola de caballo amargo.

Los principios activos del pepino en cuanto a la humedad 80.50%, cenizas totales 6.22% cenizas solubles en agua 3.80% y cenizas insolubles en ácido clorhídrico 0.20%. Cola de caballo en cuanto a la humedad 80.52%, cenizas totales 7.22% cenizas solubles en agua 3.83% y cenizas insolubles en ácido clorhídrico 0.23%, estos se encuentran dentro de los parámetros referenciales lo que quiere decir, que la droga cruda no presentó contaminación alguna por materias extrañas como tierra, etc. Además no presentó un alto contenido de metales pesados. Concluyeron que el análisis clínico al aplicar la crema hidratante a base de pepino y cola de caballo 3 veces diarias durante 10 días se observó excelentes resultados especialmente para las rodillas y codos, ya que estos permanecían hidratados hasta 12 horas en las cuales mantenían la piel fresca y con brillo”.

Villacís C. E. (2014) ¹⁸; en su tesis “Elaboración y comprobación de la eficacia in vivo de crema humectante con extracto de tomate *Lycopersicum esculentum*, Solanáceae y arazá *Eugenia stipitata*, Myrtáceae”. Menciona que “el grado de eficacia de la crema se determinó a través de una técnica de bioingeniería cutánea llamada corneometría, sobre 40 voluntarios hombres y mujeres, de una edad comprendida entre 20 y 65 años. Los extractos acuosos del tomate de riñón y arazá fueron preparados en una concentración de 90 g / 100 mL; con los extractos obtenidos realizó los ensayos organolépticos, ensayos físicos. Los extractos fueron utilizados en la fórmula inmediatamente, en una concentración del 7 y 3% respectivamente, y evaluando las propiedades organolépticas, físicas y microbiológicas de la formulación”.

Cevallos M. V. (2013) ¹⁹; en su investigación “Elaboración y control de calidad de una crema corporal hidratante a base de mucilagos y aromas naturales”. Menciona que “elaboraron la crema hidratante en base a extracto de Jacaranda, extracto de pera y mucílago de las semillas de salvia hispánica; utilizando el método experimental, para encontrar la formulación adecuada y comprobar su efecto; utilizaron conejos experimentales para comprobar la actividad hidratante, materias primas cosméticas y extractos obtenidos mediante maceración. Los extractos etanólicos fueron preparados por maceración y el mucílago mediante hidratación de las semillas. La crema se obtuvo por mezcla de Ácido esteárico, agua destilada, 0,2% de extractos de pera y jacaranda. Seleccionó conejos experimentales raza californiana misma camada y les aplicó la crema hidratante en aplicaciones de cada 1, 2, 4, 24, 48 horas y observó las reacciones que el producto causa en los animales, además procedió con el producto control, en ese caso utilizó Lubriderm, observando la disminución progresiva de resequeidad en la piel de los conejos. Su resultado se determinó que después de la hora su absorción fue completa, y que la mejor formulación fue con extracto de pera teniendo un valor promedio de absorción de 1.99 resultando ser menor a las otras formulaciones incluyendo la formulación control. Su recomendación fue realizar un posterior estudio en base a la mejor formulación para hacerla apta en personas y así comprobar su aceptabilidad y efectos en piel reseca”.

Proaño J. P. (2013) ²⁰; en su proyecto de investigación “Efecto cicatrizante de crema a base de extractos hidroalcohólicos de Romero *Rosmarinus officinalis*, Matico *Piperaduncum* y Cola de caballo *Equisetum arvense* en ratones *Mus musculus*”. Fue evaluada “mediante 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. Su resultado se evaluó estadísticamente por los test Anova, T-student, intervalo de confianza del 95%, obteniendo una efectividad 67.7% en

Grupo C y de un 42% Grupo A y B concluyendo que la crema Grupo C de una proporción de (20:30:50) 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 y que al combinarse mejora la actividad; los otros tratamientos actúan como antibacterianos tardándose 12 días en cerrar la herida completamente, todos al ser aplicados en forma tópica no presentan efectos adversos a nivel cutáneo. Su recomendación fue realizar pruebas de estabilidad más específicas para comercialización de la crema a base de los extractos hidroalcohólicos de Romero, Matico y Cola de caballo por su efectividad ya comprobada”.

2.2 BASES TEÓRICAS

Para el conocimiento, análisis y evaluación de las variables se ha consultado las diferentes teorías, definiciones y evaluaciones de literaturas que se citan a continuación:

2.2.1 Plantas medicinal *Diospyros kaki* Thumb (Caqui)

Se conoce a cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancia que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para la síntesis químico-farmacéutica. En la actualidad las plantas medicinales deben ostentar las consideraciones legales para la elaboración de medicamentos. Las plantas utilizan cuatro elementos como: agua, tierra, aire, energía solar para elaborar sus principios activos ²¹.

Las plantas medicinales realizan una actividad medicinal equilibrada en comparación con los productos de síntesis, causando menos efectos secundarios por estar compensadas de forma natural las proporciones de sus integrantes. La procedencia de la planta es importante porque depende de su hábitat en la concentración de los principios activos ²².

El principio activo que se encuentran en mayor cantidad es el responsable de la actividad terapéutica de la planta por esta razón se aísla y si es posible sintetizarlo

en laboratorio se crean medicamentos nutracéuticos que imitan la actividad de la planta y cuya obtención es más barata. Muchas de las veces los componentes secundarios juegan un papel sinérgico con el principio activo central, ya que si se aíslan es probable que no generen el mismo comportamiento terapéutico²².

En la actualidad, las propiedades medicinales de la planta *Diospyros kaki* Thumb (Caqui) sólo pueden explicarse por la presencia de compuestos químicos denominados principios activos, estos son los componentes terapéuticos. Varios se diferencian desde el punto de vista de su naturaleza química, y en como varía también el órgano vegetal de *Diospyros kaki* Thumb (Caqui) que radica su existencia. Los principios activos que con mayor frecuencia y energía actúan como medicamento son los taninos, alcaloides y glucósidos, pero esto no quiere decir que sólo estos son medicinales, muchas plantas pueden contener otros principios activos como esencias, ácidos, resinas, grasas especiales, mucílagos entre otros²³.

2.2.2 *Diospyros kaki* Thumb (Caqui)

Pequeño árbol de hoja caduca que raramente sobrepasa los 8-10 m de altura, de copa redondeada y ramas de color pardo o pardo-rojizo, cubiertas de pelos aplicados. Hojas obovadas, oblongo-ovadas o elíptico -ovadas, de 5-18 cm de longitud, acuminadas, decedentes en un pecíolo pubescente. Haz glabro, verde oscuro y envés pubescente más claro. Flores axilares, generalmente tetrámeras, amarillas; las masculinas generalmente en grupos de tres; las femeninas, solitarias. Fruto globoso u ovoide, de 4 - 9 cm de diámetro entre, amarillo, anaranjado o rojo, y dulce.²⁴

2.2.2.1 Clasificación Taxonómica

Ha sido estudiada y clasificada como ***Diospyros kaki*** Thumb y tiene la siguiente posición taxonómica, según el sistema de clasificación de Cronquist (1781).

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Ericales

Familia: Ebenaceae

Género: *Diospyros*

Especie: ***Diospyros kaki*** Thumb

Nombre Vulgar: Caqui

Determinada por: Mg. Asunción Cano Echevarria

Según constancia N° 167-USM-2017, posición taxonómica, según sistema de clasificación de Cronquist (1988). Ver figura 1. ***Diospyros kaki*** Thumb (*Caqui*)

2.2.2.2 Descripción botánica

El caqui (***Diospyros kaki*** Thumb.), pertenece a la familia botánica Ebenaceae, género Diospyro. Este género cuenta con más de 300 especie. Podemos encontrar de este género adaptadas tanto a las zonas tropical y subtropical, como a la templada. De ellas solamente 5 tiene importancia agronómica: ***Diospyros kaki*** L. f., ***Diospyros lotus*** L. f, ***Diospyros virginia*** L. f, ***Diospyros oleífera*** L. f, y ***Diospyros glaucifolia*** L. f, (EMBRAPA, 2014)²⁵. Ver figura 2.

- Porte: De crecimiento algo lento los primeros años, llega a alcanzar hasta doce metros de altura o más, aunque en cultivo se prefiere algo más bajo (5-6). Tronco corto y copa extendida.²⁶

- Hojas: Caducas, brevemente pecioladas, que con frecuencia se desprenden del árbol y pasan de rojo a anaranjado antes de recolectar el fruto.²⁶
- Flores: Con un sistema reproductivo muy característico: dioico (flores masculinas y femeninas en distinto pie), monoico (flores masculinas y femeninas en el mismo pie) y hermafrodita (flores completas). Normalmente son monoicos, con flores masculinas en flores de tres y se desarrollan en la axila de las hojas. Las femeninas son bastante grandes, presentan pétalos verdosos y son solitarias y péndulas. Actualmente sólo se están poniendo pies femeninos. El cáliz permanece aun cuando el fruto está muy próximo a la madurez.²⁶
- Fruto: Baya con forma cuadrangular muy característica. El cáliz constituye una parte fundamental en el cuajado (si se elimina no cuaja) porque es fuente de citoquininas, e Interviene en el mantenimiento del fruto. La pulpa es muy astringente hasta que no está madura, en ese momento su sabor es dulce. Las semillas maduras segregan acetaldehído que polimeriza las células responsables de la astringencia, lo cual va acompañado de un pardeamiento de la pulpa.²⁶
- Polinización: Se lleva a cabo mediante insectos. Los frutos pueden cuajar partenocárpicamente, aunque la fructificación se asegura con la polinización, pero el consumidor prefiere frutos sin semilla.²⁶

2.2.2.3 Hábitat y distribución geográfica

Se adapta muy bien a suelos fértiles, arenosos y arcillosos con pH desde un mínimo de 4. Crece entre los 3200 – 4000 m.s.n.m., en campos abiertos, áreas de cultivo. Tolera heladas ligeras, poseen óptimo crecimiento entre 30/25 °C.

- Clima: Es una especie de floración tardía, con lo cual resulta difícil que se vea afectada por las heladas primaverales. Soporta bien el clima en invierno.
- Suelo: Poco exigente. Agradecen los terrenos profundos y frescos, arcillosos no excesivamente compactos. Riego: Requiere poco riego. Evitar el exceso de humedad en el suelo.²⁵

En cuanto a la distribución geográfica, el caqui (*Diospyros kaki* Thumb.), originario de Asia, es intensamente cultivado en China, Japón y Corea el cual presentaba limitaciones en cuanto a la producción comercial en zonas tropicales y templadas del mundo (Kitaguawa y Glucina, 1984). Sin embargo, actualmente, su cultivo se ha expandido mucho fuera de Asia, principalmente a países como Estados Unidos, Israel, Italia y Brasil. En Brasil, que es hoy el cuarto mayor productor mundial (FAO, 2007), destacan las Provincias de São Paulo, Rio Grande do Sul y Paraná, como los mayores productores, principalmente São Paulo, responsable de un 50 % del total (IBGE, 2006).²⁵



Figura 2: Caqui. Fuente: Propia

2.2.2.4 Composición química

“La composición química de *Diospyros kaki* Thumb (Caqui) se ha estudiado de forma escasa en nuestro medio por lo cual, se conoce muy poco de sus principios activos”²⁷. En la rama de la Bioquímica se menciona que posee moléculas orgánicas específicas como los Terpenos, Flavonoides y Alcaloides aisladas o formando un fitocomplejo que le proporcionan la actividad terapéutica²⁵.

El Caqui (*Diospyros kaki* Thumb) destaca por su alto contenido en carbohidratos (19,53 g/100 g de peso fresco) y proteínas (4,08 g / 100 g), así como por su bajo contenido en lípidos (inferior a 0,09 g / 100 g) y ácidos nucleicos (0,11 g / 100 g). El aporte calórico de la fruta es moderado (224 kcal / pieza) y equilibrado (180 kcal de carbohidratos, 41,8 kcal de proteínas y 2,14 kcal de lípidos). Ver tabla 1.

Tabla 1. Composición química según estudios realizados.

Nutriente	Contenido en el fruto (g / 100g de peso húmedo)			Pieza (g)
	Piel	Pulpa	Media ponderada	
Agua	66.10	73.90	72.46	181.15
Carbohidratos	24.00	19.30	19.53	48.80
Lípidos	0.18	0.08	0.09	0.23
Proteínas	6.40	3.90	4.08	10.20
Ác. nucleicos	0.08	0.12	0.11	0.27
Polifenoles	2.12	0.65	0.77	1.92
Cenizas	1.20	2.05	1.95	4.87

Fuente: Análisis del valor nutritivo e interés industrial del kaki ²⁸

2.2.2.5 Valor nutricional

El caqui es una fruta que contiene un 80% de agua, se ha observado que los macronutrientes con mayor presencia son los carbohidratos, la proteína vegetal y por último tiene cantidades mínimas de grasa. no sólo es rico en proteínas, sino que además ésta resulta de alta calidad por su elevado contenido en aminoácidos esenciales: lisina (7,6 g/100 g de proteína), treonina (5,5) triptófano (1,0), metionina (8,3), leucina (9,1), isoleucina (3,8), fenilalanina (6,1) y valina (6,2). Ver tabla 2. El caqui posee un **poder antioxidante equivalente a 145 mg de ácido ascórbico por cada 100 mL de extracto líquido**, muy superior al de frutos y zumos convencionales. A ello contribuye significativamente el contenido en polifenoles (0,77 g / 100 g de peso fresco), vitamina C (21 mg / 100 g de peso fresco), vitamina E

(0,16 mg / 100 g de peso fresco), flavonoides y betacarotenos ($2,4 \times 10^{-4}$ g / 100 g de peso fresco). El caqui resulta ser además un excelente complemento dietético, al aportar los minerales necesarios para el buen funcionamiento del organismo, particularmente potasio (757,35 mg / pieza) y fósforo (87,66 mg / pieza), cuyo contenido supera al de otros frutos convencionales. Por otro lado, el kaki es un fruto que acumula productos de alto valor añadido para la industria alimentaria y farmacéutica.²⁸

El cálculo se llevó a cabo, teniendo en cuenta que el contenido proteico total del fruto corresponde a un 15.12 %, siendo el de la piel un 19 % y el de la pulpa un 14.9% en peso seco. * Se representan los valores estimados por la FAO (Organización para la Agricultura y la Alimentación) como valores mínimos para que un alimento sea considerado de alta calidad proteica ²⁸. Ver tabla 2.

En cuanto a los micronutrientes del caqui, esta fruta es rica en vitamina A (β -carotenos), contiene folato o B9, C y B3 o niacina, E o tocoferol y B6 o piridoxina. Los principales minerales que contiene el caqui son potasio, calcio, fósforo, magnesio, yodo, sodio, selenio y hierro. El caqui además aporta fibra soluble con la pectina y los mucílagos. También posee taninos que tienen efecto astringente, pero a medida que madura el fruto se van perdiendo.

El valor calórico del caqui es de 65 kcal por cada 100 gramos de fruta ²⁹.

Tabla 2. Composición de Aminoácidos de la Proteína del *Diospyros Kaki* Thumb

Aminoácidos	Contenido en el fruto (g/100g de peso húmedo)			Valores de la FAO (g/100g de proteína)	Pieza (g)
	Piel	Pulpa	Media ponderada		
Esenciales					
Lisina	7.1	7.7	7.6	5.8	0.8
Fenilalanina	6.1	6.2	6.1	6.3	0.6
Leucina	8.1	9.3	9.1	6.6	0.9
Isoleucina	3.8	3.8	3.8	2.8	0.4
Metionina	7.0	8.5	8.3		0.9
Cisteína	5.6	6.8	6.6	2.5	0.7
Valina	5.4	6.3	6.2	3.5	0.6
Arginina	4.2	5.0	4.9		0.5
Treonina	5.1	5.6	5.5	3.4	0.6
Histidina	0.3	0.5	0.48	1.9	0.05
Triptófano	1.4	1.0	1.0		0.1
No esenciales					
Aspártico + glutamina	11.9	16.6	16		1.7
Glutámico + glutamina	9.7	13.3	13		1.4
Serina	5.5	6.4	6.3		0.6
Glicina	5.1	4.3	4.3		0.4
Alanina	6.3	6.6	6.5		0.7
Prolina	21.0	4.5	6.0		0.6
Tirosina	3.0	3.6	3.5		0.4

Fuente: Análisis del valor nutritivo e interés industrial del kaki²⁸

2.2.2.6 Usos

Es utilizado para tratar afecciones van desde su capacidad para promover la pérdida de peso hasta su poder antioxidante, pasando por sus altos niveles en vitamina C y sus beneficios para la salud del corazón. Contiene altos niveles de taninos. Promueve la pérdida de peso debido a su alto contenido de fibra, Posee luteína, zeaxantina y otros nutrientes vitales que protegen la visión, Estimula la salud del sistema digestivo, Combate el cáncer debido a su alto poder antioxidante, Su alto contenido en vitamina

C, ayuda a fortalecer la inmunidad, El caqui contribuye con la salud del corazón, Reduce la retención de líquidos. Además, es antiinflamatorio, generalmente hemorroides, varices y piel inflamada, procesos degenerativos de la piel, tejido conjuntivo y de los huesos. Como también en arrugas y estrías de la piel, uñas frágiles, flacidez mamaria, úlceras varicosas, abscesos, heridas infectadas.³²

2.2.2.7 Acción farmacológica

Diversas partes del caqui se pueden utilizar con fines medicinales. Entre ellos se puede aprovechar el fruto, las hojas, la corteza del árbol o incluso las flores. Reduce la tensión, calma la tos y previene la arteriosclerosis, entre otras muchas propiedades. Cuando no está maduro contiene una cantidad abundante de yodo, ayuda a remediar el bocio. En los últimos años se ha descubierto que las hojas del caqui bajan la tensión, previenen la arteriosclerosis, purifican la sangre y lubrican el intestino. Además, es tranquilizante, estimula los fluidos corporales y calma la sed. Fortalece el bazo, combate la diarrea, la sangre en heces y las hemorroides. Las flores se usan para tratar el sarampión, mientras que la corteza del árbol se usa para tratar quemaduras. El caqui, es recomendable para personas débiles y deprimidas, gracias a su contenido en vitaminas del grupo B³². Presenta acción astringente, efecto depurativo, diurético, cicatrizante.

Astringente: Los flavonoides y el ácido silícico, favorece al mantenimiento del colágeno por los fibroblastos, aumentando la elasticidad de los tejidos. Si le damos un uso tópico este fruto nos ayuda con la retracción de tejidos y detención de hemorragias. También se la utiliza como cicatrizante y antiinflamatorio ³².

Efecto depurativo: Ayuda a prevenir arrugas, disminuye las estrías y regenera los tejidos dañados por las variaciones de peso ³².

Diuréticas: El caqui es una de las frutas que, por su alto contenido de agua, es muy aconsejada para consumirse para eliminar líquidos retenidos. Este alimento es un potente diurético, por ello, es una de las frutas favoritas en dietas o planes para perder peso. Es muy conveniente añadirla a la alimentación en casos de padecer de celulitis, retención de líquidos en piernas. Para obtener estas propiedades que el caqui aporta, se aconseja que consuma fresca, orgánica, y con piel o cáscara. Ya que, principalmente sus componentes diuréticos se encuentran en la piel ³². Por su propiedad diurética es muy útil en el tratamiento de las várices, así como en el cuidado general de la piel, ya que esto hace que elimine las bacterias que causan daño en la piel.

Cicatrizante: Por la presencia de gran cantidad de taninos, tiene varias funciones como hemostático por vasoconstricción local y cicatrizante ³⁴.

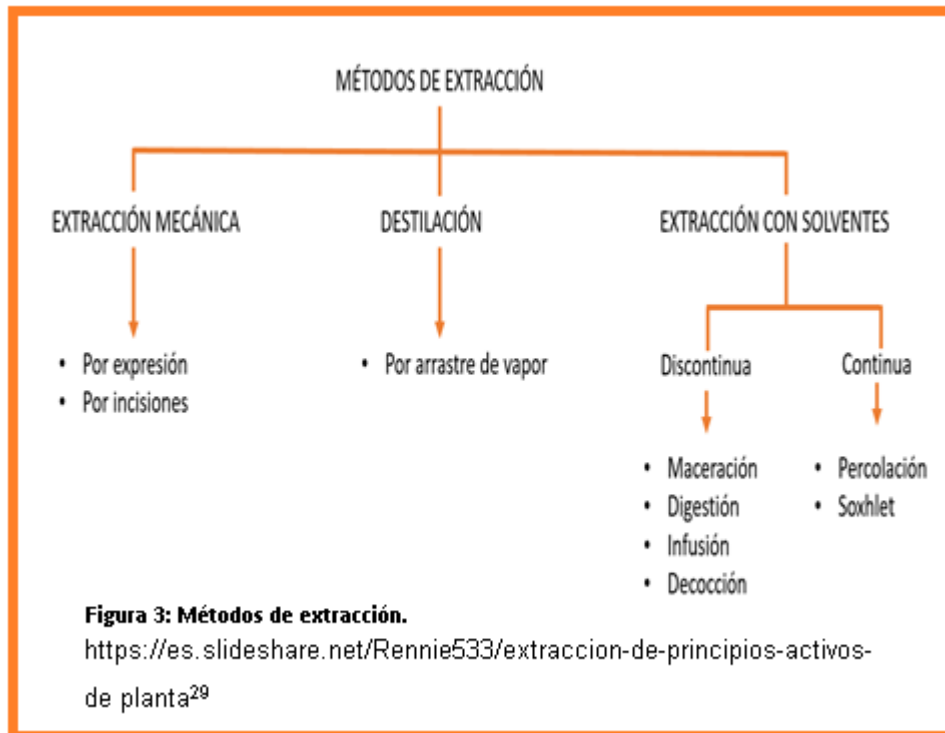
2.2.3 Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje o screening fitoquímico, es una de las etapas iniciales de la investigación, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en la planta, y a partir de allí, orientar la extracción o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés; consiste en la extracción de la planta con solventes adecuados y la aplicación de reacciones de coloración ³³.

De acuerdo con Miranda y Cuellar ³⁸ la marcha Fitoquímica consiste en someter una muestra, a la acción extractiva de solventes de polaridad creciente éter, alcohol, y agua, modificando el pH del medio con el fin de obtener los metabolitos secundarios de acuerdo con su solubilidad. Luego de separar las fracciones se realiza la identificación de metabolitos secundarios haciendo uso de reactivos de coloración y precipitación ³⁷.

2.2.4 Métodos de extracción

Es un proceso mediante el cual se produce de división de una sustancia biológicamente activa de los materiales inertes o inactivos de una planta (Ver Figura 3), a partir de la aplicación de un disolvente seleccionado y de un proceso de extracción idóneo; donde siempre se obtiene, por lo menos, dos componentes: la solución extraída en su disolvente que es el extracto) y el residuo ²⁹.



2.2.4.1 Maceración

Es el proceso en el cual se deja reposar un elemento en una sustancia, en particular, con la finalidad de extraer todo el principio activo de ella. Los medios pueden ser diversos, tales como: Alcohólico, Glicérico, Agua, Oleoso o con medios más sintéticos tales como el Propilenglicol, según sea el fin por desarrollar ²⁹.

Es un método de extracción en el cual la droga se pone en contacto con el solvente en un recipiente ámbar cerrado a temperatura ambiente. Se debe efectuar agitaciones continuas por varios días, con la influencia de la gradiente de concentración ³⁰. Al comienzo de la extracción esta gradiente

está en un nivel máximo, con el paso de los días a pesar de la agitación, va disminuyendo. Por tal motivo, se macera la droga por 7 días con agitación continua y protegiendo de la luz solar. La separación del extracto del residuo es por medio de un colado o prensado, y se procede a lavar el residuo con el líquido de extracción ³⁰. La maceración es esencial cuando los principios son claramente solubles en frío y cuando la acción de la temperatura los transforma. Generalmente se utilizan los frascos de vidrio oscuro, tanto para el proceso de extracción como luego al momento de envasar ²⁹.

El objetivo consiste en extraer la mayor cantidad posible de Principios Activos, que en el caso de la fitocosmética sería, de alguna Planta o Fruta. Las plantas, frutos, semillas o flores aromáticas son maceradas en contacto con Alcohol, ya sea alcohol de cereal, alcohol de 70°, alcohol de 90° son muy fáciles de realizar y conservar, contienen una gran cantidad de concentración de principios activos de la planta ²⁹. Para extraer los principios activos, dependiendo del medio que se utilice, pueden existir dos métodos a desarrollar:

- **Método en frío**, se deja reposar la planta o fruto, en un frasco hermético por un período de 21 días como mínimo. Luego se cuela y se envasa. Este método puede ser hecho con exposición a la luz o solamente en la oscuridad. **Este tipo de maceración tiene la ventaja de extraer una mayor cantidad de principios activos** ²⁹.
- **Método en calor**, se deja reposar la planta o fruto en el medio a elección, en una cacerola a baño maría a fuego muy suave por una cantidad mínima de 1 hora ½. Luego se cuela y envasa en frasco hermético ²⁹.

2.2.5 Efecto cicatrizante sobre la piel

2.2.5.1 La piel

Es un órgano que actúa como barrera protectora que aísla al organismo del medio que lo rodea, protegiéndolo y contribuyendo a mantener íntegras sus estructuras, al tiempo que actúa como sistema de comunicación con el entorno, y éste varía en cada especie. La piel es un órgano metabólicamente activo que para mantener su elasticidad y conservar la integridad de su función de barrera necesita agua como componente esencial, por lo tanto, su ausencia afecta a la cicatrización. El contenido de agua de la capa córnea superior se encuentra en la piel joven entre el 10 y el 20% del contenido total de agua del organismo ³⁴.

La piel mantiene su humedad gracias al agua procedente de las capas más profundas (agua trans-epidérmica) y a la secreción normal del sudor. Debido a diversos factores, por ejemplo, la falta de sustancias que retengan el agua, la sequedad excesiva del aire o una función barrera dañada, puede verse aumentada la pérdida de agua hacia el exterior por la presencia de una cicatriz. Por debajo del 10 %, la piel se seca, se vuelve más frágil, áspera, apagada y más expuesta a enfermedades cutáneas. El déficit de agua también hace más visible las arrugas ³⁴.

Pero cuando la piel es dañada se evidencia la presencia de una cicatriz que es una especie de parche de piel, permanente que crece sobre una herida. Se forma cuando el cuerpo se cura después de una cortadura, un raspón, una quemadura o una llaga. Las cicatrices también pueden resultar tras una cirugía donde se corte la piel, infecciones como la varicela o afecciones de la piel, como el acné. Las cicatrices suelen ser más gruesas, así como más rosadas, rojas o brillantes que el resto de la piel ³⁵. La apariencia de sus cicatrices depende de:

- El tamaño y la profundidad de la herida
- Su localización

- El tiempo de curación
- Su edad
- Su tendencia hereditaria a la cicatrización

Las cicatrices suelen desaparecer con el tiempo, pero en algunos casos no desaparecen completamente. Si la apariencia de una cicatriz es molesta, hay varios tratamientos que actualmente pueden minimizarla. Entre ellos se encuentran la revisión quirúrgica, la dermoabrasión, los tratamientos con láser, las inyecciones, la eliminación de células muertas con productos químicos y las cremas ³⁵. La piel comprende tres capas: epidermis, dermis y tejido subcutáneo³⁶.

2.2.5.2 Estructura de la piel

La piel consta de tres capas bien diferenciadas: la epidermis, la dermis y la hipodermis: La epidermis, es la capa más extensa. Tiene de promedio un milímetro de espesor, aunque es más gruesa en las palmas de las manos y en los pies y más delgada en los párpados. Está conformada por diferentes capas de células llamadas queratocitos, colocadas unas encima de otras como ladrillos constituyendo una barrera impermeable para casi todas las sustancias. Se regenera cada dos meses y son importantes por mantener la piel hidratada, así como proteger de la radiación solar. A su vez, está constituida por las siguientes capas: estrato basal, estrato mucoso de Malpighi, estrato granuloso, estrato lipídico y estrato córneo ³⁴.

La dermis, forma la mayor proporción de la piel y constituye el verdadero soporte de este órgano. Aquí las células no se encuentran superpuestas en capas, sino que forman un complejo sistema de fibras entrelazadas, embebidas de una sustancia denominada: sustancia fundamental. Los tipos de fibras que constituyen el armazón de la dermis y que aportan la tersura, la flexibilidad y la elasticidad características de la piel son: Fibras de colágeno (principal componente de la dermis y las que aportan resistencia y firmeza a la estructura de las células que forman la piel), Fibras elásticas (más escasas que las anteriores, responsables de la elasticidad de la piel), y Fibras de

reticulita (muy escasas y se disponen alrededor de los pelos, uñas, glándulas y vasos sanguíneos).

La hipodermis, es la capa más profunda de la piel. Se halla constituida por gran multitud de células grasas cuya misión principal consiste en aislar el cuerpo del frío y del calor exterior ³⁴.

La capa córnea es la capa más externa de la epidermis y está en contacto con el exterior. La forman células muertas que constituyen el último paso en la evolución de las células que nacieron en la capa basal. Se encuentra en constante descamación, aunque en condiciones normales este fenómeno es imperceptible. Así la piel se renueva constantemente. Esta capa aparece en toda la piel, excepto en las mucosas (o sea, labios, vulva, boca, etc.). Su función principal es proteger la piel de la deshidratación, de la radiación solar, así como de factores físicos y químicos externos ³⁴.

2.2.5.3 Cicatrización cutánea

La cicatrización es un proceso biológico encaminado a la reparación correcta de las heridas, por medio de reacciones e interacciones celulares, cuya proliferación y diferenciación esta mediada por citoquinas, liberadas al medio extracelular. Las fases de la cicatrización se dividen en inflamación, proliferación y maduración. La inflamación es la liberación de componentes de la sangre. Durante la fase proliferativa se dan dos procesos paralelos e interdependientes. Uno es la formación de un nuevo tejido conectivo rico en fibroblastos y macrófagos, y con una matriz extracelular de colágeno, fibronectina y ácido hialurónico, y el otro es la angiogénesis. Los queratinocitos de la periferia proliferan hasta que entren en contacto unos con otros. Posteriormente, de uno a seis meses, se iniciará la remodelación de ese tejido conectivo degradando el colágeno viejo por otro de tipo I y sintetizando elastina y proteoglicanos. Durante este proceso de reparación, los macrófagos y las plaquetas, se convierten en células protagonistas en la segregación de factores de crecimiento como, el PDGF, que estimulará la proliferación fibroblástica y la neovascularización de la herida por parte de las células endoteliales ³⁷. Durante la cicatrización ocurren reacciones bioquímicas y

mitóticas celulares, con tendencia a la curación y reparación de las úlceras y heridas, ya sea por primera intención o por segunda. La piel es el mayor órgano de nuestro cuerpo y cumple diferentes funciones:

- Mantener la integridad del cuerpo.
- Proteger de las agresiones externas.
- Absorber y excretar líquidos.
- Regular la temperatura.
- Impermeabilidad.
- Absorber radiación ultravioleta, metabolizar la vitamina D.
- Detectar los estímulos sensoriales.
- Función barrera frente a microorganismos.
- Interviene en mecanismos inmunológicos ³⁷.

2.2.5.4 Herida

Una herida es una pérdida de continuidad de la piel o mucosa producida por algún agente físico o químico, que cursa con una serie de signos y síntomas, tales como separación de bordes de la piel, dolor, inflamación, hemorragia, etc. Las heridas agudas son de corta evolución y se caracterizan por una curación completa en un tiempo aproximado de 6 semanas, y están causadas por un agente externo traumático. En cuanto a las heridas crónicas, suele haber un componente endógeno principal, ya sea de origen metabólico o alguna enfermedad de base produciendo un retraso en el tiempo de curación y una ausencia de crecimiento de los tejidos, como; úlceras vasculares, úlceras diabéticas, procesos neoplásicos... o iatrogénicas como las úlceras por presión. La cicatrización de las heridas se puede dar de dos maneras:

- **Primera intención:** se dará en heridas limpias no contaminadas, en las cuales se pueden aproximar bien, los bordes con una sutura precisa. Requiere una pequeña formación de tejido nuevo, su cicatriz es más estética³⁷.

- **Segunda intención:** son heridas en las cuales se ha producido una pérdida de sustancia, si se suturarán se formaría un seroma debajo, con la posibilidad de acumular bacterias e infectarse la herida. También se produce este tipo de cierres en heridas contaminadas o infectadas ³⁷.

2.2.5.5 Factores que producen la cicatrización

Toda herida puede estar afectada por una serie de factores que pueden dificultar su cicatrización, divididos en factores generales y otros que se dan a nivel local ³⁷.

a) Factores generales: Dentro de ellos tenemos la edad, la nutrición, la cantidad de glóbulos blancos, algunas enfermedades crónicas.

- La edad, debido a que la velocidad de cicatrización es inversamente proporcional a la edad del paciente, e incluso en niños se suele producir cicatrices hipertróficas.
- La circulación sanguínea, un aporte inadecuado de nutrientes y oxígeno a las células dificultará su actividad reparadora. Además, el humo del tabaco disminuye la presión parcial de oxígeno en la herida disminuyendo así la síntesis de colágeno, la angiogénesis y la actividad fagocítica ³⁷.
- Un aporte insuficiente de glóbulos blancos hace disminuir el desbridamiento del tejido dañado, por lo tanto, menor descontaminación de la herida y de proliferación celular.
- La nutrición, para una mejor cicatrización se debe aumentar el consumo de alimentos ricos en proteínas, vitaminas A y C, y sales minerales como el Zn, Ca, Cu y el Fe esencial para la síntesis de DNA y la división celular ³⁷.
- Enfermedades de base como: Diabetes, que produce una alteración de los glóbulos blancos, entre otras anomalías. Arteriosclerosis que es el depósito de lípidos y colesterol en las paredes de los vasos produciendo una disminución del aporte sanguíneo. Hipertiroidismo: Disminuye la síntesis de colágeno. Insuficiencia renal crónica.

b) Factores locales:

- Contaminación crítica, produce una fase de inflamación duradera en el tiempo, al aumentar las bacterias en la herida aumenta el número de glóbulos blancos, consecuentemente aumenta la permeabilidad de los vasos para facilitar el paso de leucocitos, produciéndose edema en el lugar de la lesión y una disminución del número de fibroblastos³⁷.
- Exceso de exudado que retrasa la proliferación de los fibroblastos, células endoteliales y queratinocitos ya que, estas enzimas alteran la sustancia fundamental de la matriz extracelular³⁷.
- La temperatura alrededor de la herida debe ser de 37 °C, pero si disminuye provoca una vasoconstricción, **dificultando el aporte de glóbulos blancos a la herida y una alteración en el transporte de oxígeno y nutrientes**. El contacto de la herida con el ambiente hace que disminuya su temperatura, tardando varias horas en recuperar su actividad reparadora y cicatricial³⁷.
- Deshidratación de la herida retrasa la cicatrización, por eso se recomienda realizar curas en ambiente húmedo. Si dejamos al descubierto la herida, posibilitamos la formación de una escara o costra, que actúa de barrera física para los queratinocitos, dificultando su migración al lecho ulceral. Además, reduce la proliferación celular y su división³⁷
- Hipotiroidismo: disminuye la degradación del tejido y la síntesis de colágeno.
- Medicamentos como: Corticoides 2-4: interfieren en la migración y fagocitosis de los glóbulos blancos, disminuyendo la descontaminación de la herida³⁷. Povidona yodada y el agua oxigenada 2: puede retardar la cicatrización destruyendo células durante la fase proliferativa de la herida³⁷. Algunas hormonas: la progesterona favorece la angiogénesis, pero deprime la fibroplasia. Los estrógenos inhiben ambas fases³⁷.

2.2.6 Fisiología de la Cicatrización

Las fases de la cicatrización se dividen básicamente en: fase hemostática e inflamación, fase proliferación y fase de maduración, aunque algunos autores la describen con algunas fases intermedias, principalmente se darán esas tres fases que se solapan unas con otras. A nivel nervioso, el traumatismo, va a desencadenar una serie de acontecimientos que supondrá el comienzo de la cicatrización.

A nivel de la piel, las células sensoriales del dolor transmitirán la señal a través de sus inervaciones a la medula espinal y al encéfalo, se estimulará el sistema nervioso central causando dos tipos de respuesta, una motora refleja, de alejamiento del foco de dolor, y una respuesta emotiva, que afectará al sistema límbico, generando una mezcla de emociones (miedo, angustia, rabia, tristeza, impotencia) que, mezcladas con el dolor, explicarán la conducta del individuo.

Además, se producirá una respuesta autónoma del sistema nervioso simpático, liberando noradrenalina que provocará una vasoconstricción en la zona afectada, aumentando la fuerza miocárdica y la dilatación pulmonar. El traumatismo supondrá una destrucción celular, se liberará su contenido, el cual será detectado por las células de Langerhans de la piel, que comenzarán a segregar sustancias químico atractivas para los neutrófilos, monocitos y eosinófilos. Con ello, comenzará activarse el sistema inmunológico, que estará en un estado de alerta por posibles entradas de agentes infecciosos, que compliquen la situación. La hemostasia comienza con la contracción de la musculatura lisa de los vasos sanguíneos, gracias al sistema nervioso autónomo, disminuyendo el flujo sanguíneo a la zona afectada. Ver foto 1.



En condiciones normales, las células endoteliales segregar sustancias anticoagulantes, pero la rotura de los vasos va a provocar que este equilibrio se

desestabilice y las células del endotelio comiencen a liberar sustancias agregantes, como el factor de Von Willebrand (vWF), glucoproteína, que actúa de puente de unión entre las plaquetas y las fibrillas de colágeno, se podría decir que interviene en el momento inicial de la hemostasia. Estas primeras plaquetas se unirán y modificarán su estructura y segregarán sustancias que favorecerán la formación del trombo de fibrina 3. La formación del trombo de fibrina se basa en una cascada de reacciones bioquímicas en la que intervienen trece factores distintos. Estos factores son enzimas inactivos compuestos por una molécula activadora, la serina, estos interaccionarán para activarse con otras sustancias, así poder interaccionar con la siguiente enzima inactiva. La formación de fibrina se puede dar por dos vías, la vía extrínseca que esta mediada por el factor de exposición tisular, liberado en el sitio de la lesión y que actuará como cofactor para la activación del factor X. Esta reacción, está catalizada por el **factor VII**. Mientras que otra vía intrínseca, se da por la activación de los **factores XII y XI**, estimulados por la agregación plaquetaria y el factor vWF, liberados por las plaquetas. Entonces, las dos vías se unen, para obtener el producto final que es la fibrina. Esta proteína filamentosa se une a las paredes de los vasos para formar una malla, que atrapa los elementos plasmáticos impidiendo su extravasación y conseguir así reestablecer la hemostasia en los capilares, además este coagulo de fibrina realizará una función fundamental para el inicio de la fase de proliferación, actuando de matriz provisional para la migración de los fibroblastos, durante la proliferación, el coagulo será reabsorbido por los macrófagos para dar lugar a la matriz madura para la epitelización.

Los mastocitos son los encargados de liberar histamina y heparina, con lo cual aumentará la vasodilatación de los vasos y su permeabilidad, de esta manera, llegarán al lecho de la herida un mayor número de fibroblastos.

Durante la inflamación, los neutrófilos y monocitos acudirán al lugar de la lesión atraídos por las células de Langerhans, los factores de agregación plaquetaria y la interleucina 8, segregados durante la coagulación 3. Los neutrófilos, son los primeros en acudir a la herida ya que son las células de defensa que más abundan en la sangre, liberarán enzimas (elastasas y colagenasa) que destruirán el tejido

dañado 4, además por medio de la fagocitosis destruirán bacterias presentes en la herida³⁷. Ver foto 2.



Luego quedarán atrapados en el coagulo y sufrirán apoptosis. Los monocitos, estimulados por interleucinas y fragmentos de la matriz extracelular, viajan como tales por el torrente circulatorio hasta llegar a la zona de la lesión. En la periferia vascular, estos monocitos quedarán unidos a la pared del endotelio, a través del cual, migrarán al lecho de la herida transformándose en macrófagos, convirtiéndose en el componente principal de limpieza de la herida y proliferación celular³⁷. Habrán macrófagos, cuya función será de desbridamiento del tejido dañado y otros macrófagos reparadores, sufrirán un cambio genético en su RNAm, cuya función principal será la de segregar citoquinas (factores de crecimiento e interleucinas), proteínas que dirigen las fases de la cicatrización y establecen el comienzo de una fase u otra 5, como el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), el TNF-alfa, PDGF, TGF-alfa, IL-1, TGF-beta, IGF, estas sustancias estimularán a los fibroblastos y células epidérmicas para el cierre de la herida 3. Los factores de crecimiento e interleucinas son liberados en la herida por plaquetas, macrófagos, linfocitos y células endoteliales. En la tabla 3, se describen algunos factores de crecimientos e interleucinas segregados durante la cicatrización, no se conoce el mecanismo de acción de estas sustancias, pero lo que sí se sabe que inducen a la proliferación fibroblástica y a la angiogénesis³⁷.

Tabla 3. Factores de crecimiento e interleucinas en cicatrización

FACTOR	CÉLULA DE ORIGEN DE LA HERIDA	FUNCIÓN
F.C. Derivado de Plaquetas	PDGF	Plaquetas, macrófagos, endotelio. Proliferación fibroblástica. Quimiotaxis. Activación de neutrófilos y macrófagos, angiogénesis.
F.C. Derivado de Transformación beta	TGF-β	Plaquetas, neutrófilos, linfocitos, macrófagos. Proliferación fibroblástica. Quimiotaxis. Angiogénesis.
F.C. Derivado de Transformación alfa	TGF-α	Macrófago reparador, plaquetas, queratinocitos. Proliferación fibroblástica y epitelial.
F.C. Epidérmico	EGF	Plaquetas y plasma. Proliferación fibroblástica y epitelial. Formación de tejido de granulación.
Interleucina	IL-1	Macrófagos, linfocitos. Proliferación fibroblástica y epitelial. Liberación de colagenasas. Quimiotaxis.
Factor de Necrosis tumoral	TNF	Macrófagos, mastocitos, linfocitos T. Proliferación fibroblástica.
F.C. Fibroblástico	FGF	Macrófagos. Depósito de la M.E.C. Contracción, angiogénesis. Proliferación epitelial y fibroblástica.
F.C. Insulínico	IGF	C. Endoteliales C. Musculares. Proliferación fibroblástica.
Interferón	IFN	Linfocitos y fibroblastos. Inhibición de la síntesis de colágeno. Proliferación fibroblástica.

Fuente: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4606613>

Es importante resaltar, que los macrófagos segregan la mayoría de las sustancias, que favorecen la cicatrización, por lo tanto, se demuestra el papel importante que juegan en la transición de la inflamación a la reparación de la herida. El inicio de la proliferación celular se inicia con la segregación de citoquinas y PDGF por parte de los macrófagos, estas sustancias estimularán la migración de los fibroblastos, al lecho de la herida para formar la matriz extracelular, y la epitelización desde los bordes de la herida³. Los fibroblastos son células especializadas en la formación de fibras de colágeno y de sustancia fundamental, como el ácido hialurónico y los proteoglicanos. Estas células, gracias a sus receptores de fibronectina, migran por

el coágulo y sintetizan colágeno estimulados por los factores de crecimiento e interleucinas, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) o los interferones sintetizados por los linfocitos; cuando el tejido de granulación progresa, los macrófagos van reabsorbiendo el coágulo hacia el lecho de la herida, de tal manera que el coágulo va disminuyendo de grosor, para dar paso al tejido conectivo de fibras de colágeno de tipo I, II, III ³. No hay que olvidar que la migración fibroblástica va acompañada siempre de una neovascularización de la zona, los fibroblastos segregan factores angiogénicos, como el PDGF o IL-8, generando un ambiente idóneo para esta nueva formación capilar, y así aportar el oxígeno y los nutrientes necesarios para la síntesis de colágeno. El tejido de granulación adquiere una tonalidad rojiza debido a la intensa angiogénesis que se está realizando. Mientras se está reabsorbiendo el coágulo, se está formando una nueva matriz, aunque aún no definitiva. Esta matriz intermedia está compuesta principalmente por fibroblastos, que sintetizan sustancias como colágeno de tipo I, II, III y la sustancia fundamental formada por ácido hialurónico y proteoglicanos. La formación de una matriz secundaria más estable, esta inducida por el TGF beta, el ácido hialurónico disminuye y se produce un cambio en la estructura de los fibroblastos, su aparato de Golgi y su Retículo Endoplasmático aumentan de tamaño para producir una mayor número de proteínas, y se sintetiza un nuevo colágeno de tipo I, III, V ³, y también elastina para darle a la matriz un componente elástico, además hay un aumento en la síntesis de proteoglicanos. Una vez formada esta matriz, algunos fibroblastos adquirirán propiedades de músculo liso, son los miofibroblastos, que tienen la función de contraer la herida gracias a las miofibrillas formadas en su citoesqueleto ². La contracción de la herida podrá ser de unos 0,6-0,7 mm. /día (Leaper en 1998). Los fibroblastos, quedan unidos al colágeno y a los fragmentos de fibronectina, las fibras de colágeno a su vez se unen a los bordes de la herida, y de esta manera se forma una red por la cual podrá comenzar la epitelización de la herida. La angiogénesis que se ha ido formando paralelamente al tejido de granulación, se forma a partir de la periferia vascular. La membrana basal de las células endoteliales se rompe y estas células comienzan a proliferar, este proceso este inducido por citoquinas segregadas por las propias células endoteliales y los fibroblastos como; el VEGF ³, PDGF ³, IL 8 ³, TNF-alfa ³, FGF-2 ¹, TGF-beta ³⁷. Los bordes de las células endoteliales se anastomosan para

formar una nueva red de capilares, que con frecuencia sobresale a la superficie de la herida, dando lugar a unos pequeños gránulos rojos³⁷. Ver foto 3.



Luego se diferenciarán en arteriolas y vénulas. La epitelización de la herida comienza al poco tiempo de haberse formado el tejido de granulación maduro. La transición dermo-epidérmica está gobernada sobre todo por los factores de crecimiento PDGF y KGF 5. Los queratinocitos proliferan desde los bordes de la herida hacia el centro, y están estimulados por factores de crecimientos liberados por las propias células epiteliales del borde de la herida, como; el factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante alfa (TGF-alfa), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF) o el factor de crecimiento queratocítico (KGF) 2-3. Las moléculas de unión desmosómicas y hemidesmosómicas de los queratinocitos desaparecen, y así poder proliferar a través de la matriz estable de colágeno, proteoglicanos y fibronectina ³⁷. Para que los queratinocitos puedan transitar debe de haber un tejido de granulación maduro, por ello es indispensable la degradación de la fibrina por parte de los macrófagos. Los queratinocitos migran gracias a sus receptores de membrana que tienen gran afinidad por la fibronectina de la matriz extracelular ³. Al contactar células epiteliales entre sí, se forma de nuevo la membrana basal y las proteínas de unión, para volver a una proliferación epidérmica normal. Durante esta fase, aparecen unos signos evidentes que nos

indican que se está produciendo una epitelización de la herida, por ejemplo; la herida se sitúa al mismo nivel que la piel circundante, el lecho debe tener una tonalidad rojiza, y en los bordes de la herida aparece un epitelio rosado³⁷. Ver foto 4.



La maduración de este nuevo tejido conectivo comienza a partir de la tercera o cuarta semana, gracias a una remodelación de las fibras de colágeno. Para que pueda producirse esta fase, la herida debe de estar cerrada completamente. Los capilares sufren una necrosis y son reabsorbidos por los macrófagos y su espacio es ocupado por fibras de colágeno. Para conseguir esta reorganización de las fibras, aparecen una serie de metaloproteasas con actividad colagenolítica que degradan el colágeno desnaturalizado y los proteoglicanos³. Este proceso produce en la cicatriz un cambio en la textura de la piel, en el grosor y el color³⁷. Ver foto 5.



Foto 5: Maduración de nuevo tejido conectivo.
Tomado de: <https://anediidic.com/descargas/formacion-dermatologica/03/la-cicatrizacion-de-las-heridas.pdf>

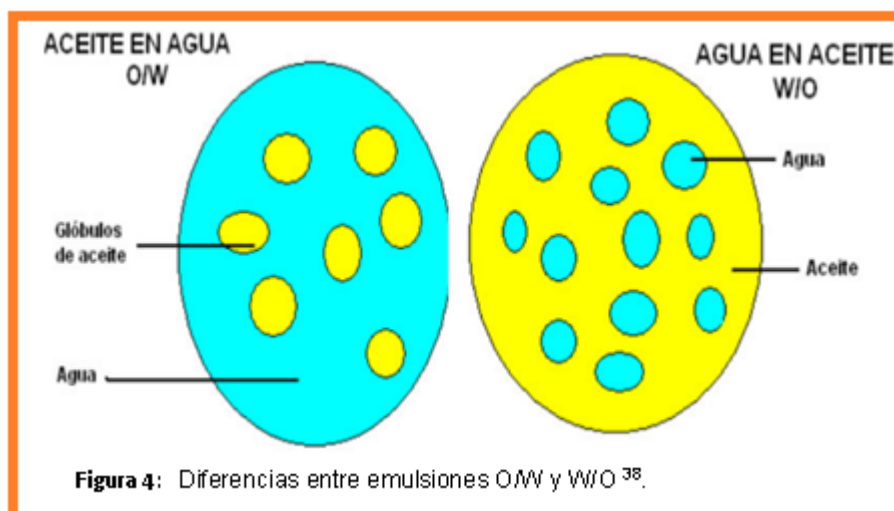
La herida se contrae gracias a la acción de los miofibroblastos, llegando a una capacidad de contracción del 20% de la piel normal a los 21 días y hasta un máximo de contracción del 80% a los 6 meses (Brown 1998) 2. El tejido cicatrizal es un tejido poco vascularizado, sin pelo, sin glándulas sebáceas ni sudoríparas. Esta fase puede continuar a lo largo de los meses e incluso uno o dos años.

2.2.7 Crema cosmética

Las cremas son preparaciones homogéneas y semisólidas consistentes en sistemas de emulsión opacos. Su consistencia y sus propiedades dependen del tipo de emulsión, bien sea agua /aceite (hidrófobas) o aceite/agua (hidrófilas) y la naturaleza de los sólidos de la fase interna ³⁸.

Las cremas están destinadas para su aplicación en la piel o ciertas mucosas con efecto protector, terapéutico o profiláctico, en particular cuando no se necesita un efecto oclusivo. Las cremas pueden ser ³⁸:

- Cremas hidrófobas, son habitualmente anhidras y absorben sólo pequeñas cantidades de agua. Contienen agentes emulsificantes agua/aceite ³⁸.
- Cremas hidrófilas, contienen bases miscibles con agua. Los agentes emulsificantes son aceite /agua tales como jabones de sodio o trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados. Estas cremas son fundamentalmente miscibles con las secreciones cutáneas ³⁸. Ver figura 4.



Fuente: <http://bellezaporunproposito.co/la-historia-de-las-cremas-humectantes-e-hidratantes>

2.2.8 Crema cicatrizante

Las cremas cicatrizantes, son un producto cosmético concebido para combatir la sequedad de la piel, además de darle suavidad. Son emulsiones con fases que consisten en dos líquidos que no se mezclan completamente. La fase interna o discontinua se dispersa como glóbulos finitos en la otra. Las emulsiones grasas en agua, tiene como fase dispersa al aceite o grasa y al agua como fase continua. En las emulsiones agua en aceite el agua está dispersa en el aceite, la cual es la fase externa ³⁹.

Son materiales hidrosolubles con gran capacidad de absorción de agua. Son capaces de atraer agua de la atmósfera, la epidermis subyacente puede captar agua del ambiente para contribuir a la hidratación de la piel. En condiciones de baja humedad pueden absorber agua de la epidermis profunda y de la dermis, lo que resulta una mayor sequedad de la piel, por esta razón son más efectivos cuando se combina con agentes oclusivos, los humectantes son también aditivo de las cremas hidratantes cosméticas porque previenen la evaporación del producto y el engrosamiento lo que aumenta la vida útil del mismo. Algunos humectantes e cicatrizantes también tienen actividad bacteriostática, los hidratantes aportan agua a la piel entre los más utilizados para hidratar la piel tenemos la glicerina, el sorbitol, el hialuronato de sodio y los azúcares. Respecto a su aplicación, lo mejor es hacerlo sobre la piel húmeda, incluso justo antes del maquillaje ³⁹. Generalmente, se considera tres grandes grupos de cremas hidratantes para una buena cicatrización, entre ellas tenemos: cremas humectantes, oclusivas y otras ³⁹.

- **Cremas Humectantes**, se tratan de compuestos a base de glicerina, especialmente indicados para pieles grasas que también necesitan hidratarse. Su función consiste en llevar el agua hasta las capas superiores de la piel ³⁹.
- **Cremas Oclusivas**, con su aplicación se pretende evitar o retrasar en lo posible la evaporación del agua aporta a la cicatrización ³⁹.
- **Otras**: Están constituidas por un grupo de compuestos, más activos que los anteriores, y que, en lugar de trabajar con el agua, lo hacen directamente

con la piel. Contienen moléculas grasas, que ayudan a mantener las defensas naturales de la piel para una buena cicatrización y evitar la pérdida de humedad³⁹.

2.2.9 Formulación de crema cutánea cicatrizante

La elaboración de formulaciones de cremas al principio es sencilla y no implica dificultad, a pequeña escala, su preparación requiere tiempo para garantizar la correcta inhibición del gelificante en el agua de la fórmula en la que previamente se habrán disuelto el resto de los ingredientes hidrosolubles (humectante, activos, etc.).

Si la viscosidad de la crema no es elevada el proceso puede acelerarse mediante el empleo de agitación mecánica enérgica, ello comportará la incorporación de aire en el preparado, que podrá eliminarse manteniendo el producto en reposo un tiempo más o menos prolongado previo a su acondicionamiento en el envase definitivo⁴⁰.

Existen cremas concentradas, humectadas con principios activos destinados para el proceso coadyuvante para una buena cicatrización y preparadas que se diluyen en función de sus necesidades, y en los que se incorporará los activos, perfumes, colorante, etc. Las bases para la elaboración de cremas pueden integrar humectantes, conservantes, principios activos naturales con acción cicatrizante etc. Que agilizan notablemente la formulación de los productos⁴⁰.

Los principales ingredientes en una crema cicatrizante son el agua y el aceite. La proporción de aceite y agua que está presente en la crema cicatrizante es lo que diferencia una crema hidratante de otras. Las personas con piel sensible deben elegir una crema cicatrizante que es a base de aceite y productos que estimulen la producción de sustancias que regeneren la elasticidad y tersura de la piel⁴¹. Ver tabla 4.

Tabla 4: Crema base más utilizada⁴¹

Crema más utilizada	
Insumos o Excipientes	Cantidad en porcentaje
Vaselina Liquida	2%
Vaselina solida	4.0%
Alcohol cetosteárilico	1.5%
Galenol	5.0%
Alcohol bencílico	0.1%
Glicerina	2.0%
Propilenglicol	2.5%
Agua csp.	100 g

La preparación consistió en dos fases; una fase oleosa y la otra acuosa, en la fase Oleosa (Vaselina líquida, Vaselina sólida, Alcohol cetosteárilico y Galenol) y para la fase Acuosa (Alcohol bencílico, Glicerina y agua).

Se preparó por separado la fase Oleosa de la Acuosa, vertiendo los excipientes en un beaker de 250 mL y a una temperatura de 70° C, una vez mezclado cada fase, estas se mezclan a una temperatura de 50° C, y es donde se agrega el Propilenglicol y la muestra de *Diospyros kaki* Thumb en polvo liofilizado. Se hicieron potes de 30 gramos de crema y en concentraciones de 5%, 10%, 15% y 20%, utilizando las siguientes cantidades. Ver tabla 5.

Tabla 5: Cantidad de Principio Activo usado en la crema cicatrizante

Formulación		
Concentraciones	Crema Cicatrizante	Cantidad de Activo
5%	30 gramos	1.5 g.
10%	30 gramos	3.0 g.
15%	30 gramos	4.5 g.
20%	30 gramos	6.0 g.

Fuente: Preparación propia

Para la constitución de la crema cicatrizante se tomó ciertos criterios como son:

- **Vaselina líquida y sólida**, ambos se utilizaron como humectantes para evitar la pérdida de agua.
- **Alcohol cetosteárico**, (es un estabilizante de emulsión), es una cera de alto peso molecular, el estado fisicoquímico es sólido este le confiere a la crema estabilidad, fluidez o turgencia a la crema.
- **Galenol**, es una mezcla de ácidos grasos de 16 y 18 carbonos, es característico por ser un Tensoactivo, es decir, ayuda a la reducción de la resistencia entre las micelas de aceite en agua.
- **Alcohol bencílico**, es un preservante para Gram (-) y Gram (+) y hongos.
- **Glicerina**, actúa como humectante.

2.2.10 Ensayos farmacológicos

Debido a que los animales de laboratorio se presentan como cepas con variabilidad biológica limitada, diversos ensayos realizados con ellos para determinar que una crema determinada obtendrá las características deseadas de eficacia y seguridad en poblaciones humanas; es por eso que son ellos que proporcionan la información necesaria para obtener un producto que no resulte nocivo para la salud de los humanos debido a que se desconoce por completo sus efectos secundarios, el cual puede ser lo suficiente peligroso para la salud. La prueba intenta asegurar las propiedades hipoalérgicas de los productos para el uso en humanos ⁴².

- **Animales de experimentación**: son cualquier especie animal utilizada en experimentación con fines científicos, es decir, mantenido bajo determinadas condiciones y utilizado como instrumento de medida. Este al ser sometido a una experimentación proporciona datos, los cuales son utilizados como información para los resultados. Como por ejemplo de esos animales tenemos al ratón, la rata, el hámster, el conejo, el perro o el mono ⁴³.

- **Conejos**

El conejo es un mamífero roedor que en libertad se alimenta exclusivamente de hierbas y granos, su cuerpo está cubierto por un pelo espeso y suave, tienen un temperamento asustadizo, propensos al pánico, por eso su trato y transporte debe ser cuidadoso. Cuando están nerviosos pueden arañar con los miembros posteriores y a veces llegan a morder ⁴³.

Taxonomía del conejo

Clase: Mamífero

Orden: Lagomorpha

Género: Oryctolagus

Especie: Cuniculus

Es recomendable utilizar razas medianas, ya que las pequeñas tienen orejas extremadamente cortas y las inoculaciones se hacen dificultosas; las razas muy grandes, son difíciles de manipular y consumen más alimentos y cajas más grandes⁴³.

La más utilizada para ensayos en laboratorios es la raza californiana que son especies de color blanco cuerpo cilíndrico y rara vez poseen manchas negras o plomas ⁴³.

Para las pruebas in vivo se realizan con conejos de 1 – 3 Kg, no son sacrificados⁴³.

El procedimiento del ensayo:

1. El día anterior a la prueba debe rasurarse el dorso del animal en el área de aplicación de los parches con la rasuradora, utilizando primero el peine para facilitar su corte. Se debe hacer cuidadosamente sin lesionar la piel al rasurar.

2. Los parches para aplicar deben aplicarse directamente al animal, cubrir con el parche de gasa quirúrgica esterilizada de 2x2 cm, con un grosor de 4 a 8 capas colocando en cualquier sitio del dorso del animal.

Evaluación de la prueba:

- La evaluación de todos los animales debe realizarse colocándolos bajo una fuente de luz blanca fluorescente de 160 watts a una distancia de 90 cm y sobre un fondo negro.
- El tiempo de aplicación del parche varía dependiendo de la naturaleza del producto.

2.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis general

La crema a base de *Diospyros kaki* Thumb tiene efecto cicatrizante sobre la incisión de piel de conejos de la cepa *New Zealand*.

2.3.2. Hipótesis específicas

1. Existen metabolitos secundarios que están presentes en el extracto del fruto de *Diospyros kaki* Thumb.
2. Los tiempos de aplicación de la crema a base del extracto *Diospyros kaki* Thumb, influyen directamente en el efecto cicatrizante en incisión de piel de conejos *New Zealand*
3. Los tiempos de cicatrización de la crema a base del extracto de *Dyospiros kaki* Thumb, influyen directamente en el efecto cicatrizante en piel incisión de conejos *New Zealand*.
4. La crema a base del extracto de *Dyospiros kaki* Thumb posee efecto cicatrizante comparado con Cicatricure, en incisión de piel de conejos *New Zealand*.

2.4 Variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES
Crema a base de <i>Diospyros kaki</i> Thumb	Metabolitos secundarios Frecuencia del tratamiento
VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES
Efecto Cicatrizante	Acción Cicatrizante de la crema

2.5 MARCO CONCEPTUAL

- **Ingrediente natural:** Es un tipo de vegetal, animal, mineral o elemento marino que es un extracto directo obtenido de la producción agrícola o a través de un procedimiento físico ⁴⁶.
- **Producto de origen natural:** Es todo producto que proviene de la naturaleza el cual ha sido transformado a través de procedimientos cuidadosos con el ambiente⁴⁶. Un producto cosmético que está compuesto por ingredientes de origen orgánico debe ser certificado por un agente del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). Una vez certificado, puede optar a una de las 4 categorías ecológicas en función de su contenido orgánico y otros factores ⁴⁷.
- **100 por ciento orgánico:** El producto debe contener sólo ingredientes producidos orgánicamente, excluyendo agua y sal ⁴⁸.
- **Orgánico:** El producto debe contener por lo menos 95 por ciento, de sus ingredientes de producción ecológica, excluyendo agua y sal. Los ingredientes restantes deben consistir en sustancias no agrícolas aprobadas en la Lista Nacional ⁵⁰.
- **Emulsiones:** Una emulsión es un sistema líquido formado por dos líquidos miscibles en el que uno de ellos está finamente dispersado en el otro. Las emulsiones que se utilizan en cosmética, consisten en una fase acuosa polar y una fase oleosa no polar. Son emulsiones aceite en agua (O/W) y agua en aceite (W/O)⁴⁴.
- **Emulsión O/W (aceite en agua):** En esta forma de emulsión, las gotitas de la fase oleosa de la preparación se sitúan dentro de la fase acuosa. Las emulsiones O/W se absorben rápidamente en la piel y no dejan ningún brillo oleoso. Pueden extenderse con especial facilidad sobre la piel. Cuando se aplican, la parte acuosa se evapora generando un efecto refrescante. La fase

oleosa interna hidrata y engrasa la piel. Se lavan con agua y son adecuadas como emulsiones limpiadoras y para el cuidado diario normal ⁴⁴.

- **Emulsión W/O (agua en aceite):** En casos de piel seca se recomienda el uso de emulsiones agua en aceite (W/O). En éstas, la fase interna consiste en gotitas de agua rodeadas por la fase oleosa. Las emulsiones agua en aceite no se absorben con tanta rapidez en la piel. Garantizan una intensa hidratación cutánea y generan un cociente aceite/humedad equilibrado. En función de estas características, las emulsiones agua en aceite son muy eficaces en el tratamiento de procesos cutáneos secos. Son adecuadas para liberar principios activos en la piel y no pueden ser lavadas con agua sola ⁴⁴.
- **Crema:** Es una preparación compuesta por una fase acuosa y una fase oleosa y es estabilizada con un emulgente. Las cremas lipofílicas son las preparaciones denominadas emulsiones agua en aceite (W/O), mientras que las cremas hidrofílicas son emulsiones aceite agua (O/W). La base oleosa para las emulsiones W/O son habitualmente bases de absorción como lanolina. Las cremas pueden recuperar una película hidrolipídica deteriorada o, gracias a su efecto oclusivo, rehidratar la capa córnea de la piel ⁴⁴.
- **Hidratante:** Son todas las sustancias higroscópicas que poseen la propiedad de absorber el agua de la humedad del aire, hasta alcanzar un cierto grado de dilución ⁴⁵.
- **Agua destilada:** Es aquella sustancia cuya composición se basa en la unidad de moléculas de H₂O. Es aquella a la que se le han eliminado los iones e impurezas mediante destilación. El agua destilada es aquella cuya composición se basa en la unidad de moléculas de H₂O. Es aquella a la que se le han eliminado las impurezas e iones mediante destilación. Debido a su relativamente elevada pureza, algunas propiedades físicas de este tipo de agua son significativamente diferentes a las del agua de consumo diario ⁴⁸.
- **Alcohol:** El compuesto químico etanol, conocido como alcohol etílico, es un alcohol que se presenta en condiciones normales de presión y temperatura como un líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78,4°C.

Mezclable con agua en cualquier proporción; a la concentración de 95 por ciento, en peso se forma una mezcla isotrópica. El etanol es un líquido volátil, incoloro que tiene un olor ligero. Arde con una llama sin humo azul que no siempre es visible con luz normal ⁴⁹.

- **Glicerina:** Se obtiene principalmente de aceites y grasas como producto intermedio en la fabricación de jabones y ácidos grasos. La glicerina es un agente deshidratante osmótico con propiedades higroscópicas y lubricantes. Tiene también acción antiflogística local y tópica. Es emoliente, protegiendo y ablandando la piel. Por vía oral es demulcente y laxante débil, también edulcorante. Dosificación como emoliente, humectante: 5 - 30 por ciento - como conservador: >20 por ciento ⁴⁸.
- **Propilenglicol:** Es un compuesto orgánico (un alcohol, más precisamente un diol) incoloro, insípido e inodoro. El Propilenglicol es un líquido claro, incoloro, ligeramente viscoso a temperatura ambiente. Es un excipiente disolvente, cosolvente, y humectante, con propiedades bactericidas y fungicidas. A concentraciones elevadas actúa como conservante de efectividad casi similar al etanol, sobre todo juntamente con parabenos, por lo que se usa en dermatología para prevenir o tratar infecciones secundarias. Aplicaciones como solvente o cosolvente: 5 - 80 por ciento. Como humectante: hasta 15 por ciento. Como conservante: 15 - 30 por ciento ⁵⁰.
- **Vaselina:** Masa blanquecina translúcida, de aspecto graso, untuosa al tacto, prácticamente inodora. En usos farmacéuticos, como emolientes con dosificación de 10 a 30 por ciento. No es absorbida por la piel ni se presta a la absorción de los principios activos a ella incorporados. Por tanto, se puede utilizar como excipiente único cuando interesa que el principio activo permanezca sobre la epidermis; en caso contrario se debe añadir otro excipiente que sí sea absorbido, como la lanolina ⁵¹.
- **Alcaloides:** Son compuestos orgánicos nitrogenados tienen una distribución restringida en el reino vegetal, sus principales funciones son: analgésicos y narcóticos, midriáticos, otros son mióticos provocan la elevación de la

presión sanguínea, los alcaloides son capaces de ejercer una actividad fisiológica muy variada ⁵².

- **Taninos:** Son polifenoles ampliamente distribuidos en el reino vegetal, se utilizan como astringentes de heridas en la piel, hemostáticos, antidiarreicos, antiinflamatorios y como antídotos para ciertos venenos ⁵³.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. TIPO DE ESTUDIO

3.1.1 SEGÚN EL NIVEL DE CONOCIMIENTO CIENTÍFICO

Según Hernández Sampieri (2000) ⁵⁴, “la investigación científica es sistemática, controlada, empírica y crítica, de proposiciones hipotéticas y que cumple con dos propósitos fundamentales: produce conocimiento y teorías y resuelve problemas prácticos”.

La investigación experimental se ha ideado con el propósito de determinar, con la mayor confiabilidad posible, relaciones de causa-efecto, para lo cual uno o más grupos, llamados experimentales, se exponen a los estímulos experimentales y los comportamientos resultantes se comparan con los comportamientos de ese u otros grupos, llamados de control, que no reciben el tratamiento o estímulo experimental⁵⁵.

La investigación es de tipo experimental, ya que se manipuló la variable independiente (crema a base de *Diospyros kaki* Thumb) y se midió la variable dependiente (efecto cicatrizante).

3.1.2 SEGÚN LA PLANIFICACIÓN DE TOMA DE DATOS

Según Hernández Sampieri (2000) ⁵⁴, “la investigación prospectiva es aquella que se inicia con la exposición de una supuesta causa, y luego sigue a través del tiempo a una población determinada hasta hallar o no la aparición del efecto”.

La investigación es de tipo prospectiva, ya que se induce irritación a la piel de 30 conejos y los datos se recogerán en diferentes espacios temporales.

3.2 DISEÑO DE ESTUDIO

Según Hernández Sampieri (2000) ⁵⁴, “el diseño es la estructura para seguir en una investigación, ejerciendo el control de esta a fin de encontrar resultados confiables y su relación con los interrogantes surgidos de los supuestos e hipótesis-problema. Se categoriza a los diseños en dos tipos básicos: Diseños bibliográficos y Diseños de campo.



- Investigación básica, se hace en el laboratorio al trabajar con animales, materiales no humanos, tejidos humanos, etc. ⁵⁵
- Investigación experimental es cuando a través de un experimento se pretende llegar a la causa de un fenómeno. Su esencia es la de someter el objeto de estudio a la influencia de ciertas variables en condiciones controladas y conocidas por el investigador ⁵⁵.

El estudio realizado utilizó un diseño de campo de tipo experimental; ya que se determina el efecto hidratante de la crema a base de *Diospyros kaki* Thumb.

3.3 POBLACIÓN

Según Hernández Sampieri (2000) ⁵⁴, “La población es el conjunto o totalidad del fenómeno a estudiar, en donde las unidades de población poseen una característica común la cual estudia y da origen a los datos”.

La población de la presente investigación está conformada por conejos divididos en cinco grupos de 6 unidades cada uno. Ver tabla 7.

Tabla 7. Cantidad de conejos por grupos

Grupos	Cantidad
N° 1	6
N° 2	6
N° 3	6
N° 4	6
N° 5	6
Total	30

Fuente: Propia

3.4 MUESTRA

Según Hernández Sampieri (2000) ⁵⁴, “La muestra es cualquier subgrupo o subconjunto de la población, y delimitan las características de la población”.

3.4.1 Tipo de muestreo

No probabilísticos cuando la selección se realiza por conveniencia, el número es pequeño y se selecciona todo el universo, o porque no se tiene el marco de muestra⁵⁴.

Para el estudio se utilizaron 30 conejos y la unidad de análisis fue el lomo de los conejos sometidos a irritación.

3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica empleada en la presente investigación fue la de observación de tipo experimental participante, controlada por el investigador en el laboratorio debido que puede manipular las variables.

3.5.1 Instrumento

El instrumento fue una ficha de observación elaborada por los investigadores, basándose en los indicadores de las variables para establecer el instrumento. En

la presente investigación se utilizó como instrumento la hoja o ficha de registro de datos. Ver anexo 2.

3.5.2 Equipos

- Balanza analítica, equipo de baño maría, batidora, cámara digital, computadora, refrigeradora.

3.5.3 Reactivos

- Agua Destilada, alcohol al 96 %, éter, etanol,
- Glicerina, Galenol, Alcohol cetosteárico, Vaselina líquida Vaselina sólida, Alcohol bencílico, Propilenglicol, Agua csp.
- Alcohol etílico, Reactivo de Dragendorff, Hidróxido de Sodio, Ácido Clorhídrico concentrado, Granallas de Magnesio Metálico, Solución de Cloruro Férrico al 5%, Solución de Ninhidrina al 5%, Solución de Fehling A y B, Cloroformo, Alcohol amílico, Ácido Clorhídrico 1%.

3.5.4 Materiales de laboratorio

Pipetas 1, 5, 10 ml, varilla de agitación, tubos de ensayos, cuchillos, frascos de vidrio, toallas absorbentes, embudos, vasos de precipitación 500 ml, espátulas, buretas 25 ml, algodón, gasa, mascarillas, rasuradora, hisopos, guantes, Hoja de afeitar marca Gillette de 3 hojas, tijera pequeña.

3.5.5 Material biológico y vegetal

Treinta conejos blancos de New zealand de 2 Kg, debido a su sensibilidad similar a la de la piel humana, procedente de la Universidad Peruana Cayetano Heredia – SMP, los mismos que fueron distribuidos en 5 grupos de seis animales con peso similar.

Pulpa de *Diospyros kaki* Thumb (Caqui) recolectados en el departamento de Huaral, provincia de Lima – Perú.

3.6 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El estudio se ha realizado en los laboratorios de la Universidad Peruana Cayetano Heredia para el acondicionamiento y Extracción Acuosa del fruto de "***Diospyros kaki*** Thumb" y Liofilizado del Extracto Acuoso de "***Diospyros kaki*** Thumb; para la preparación de la maceración del fruto; Laboratorio de farmacognosia para las pruebas de solubilidad y marcha fitoquímica en la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; el Liofilizado del Extracto Acuoso de "***Diospyros kaki*** Thumb para la preparación de la crema base, se realizó en la Universidad Mayor de San Marcos, posteriormente el desarrollo práctico de la aplicación de la crema cicatrizante, la evaluación y seguimiento del mismo (Trabajo de campo) se realizó en el bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Ver Anexo 4.

3.6.1 Recolección de la muestra

La recolección se realizó manualmente; se seleccionaron los frutos de "***Diospyros kaki*** Thumb" que se encontraban en buen estado, se eliminaron los cuerpos extraños de aquellas partes no aptas para el estudio; se realizó la recolección de 10 caquis.

3.6.2 Selección del fruto

Se seleccionaron los frutos de totalmente desarrollados de ***Diospyros kaki*** Thumb, cuya mayor cantidad de principios activos se encuentra cuando la fruta está en madurez fisiológica.

3.6.3 Identificación - Clasificación Sistemática

Debe verificarse y registrarse la identidad botánica - nombre científico (género, especie, y familia) de las plantas que se recolecta, de acuerdo con textos botánicos y páginas de especialidades de identificación sistemática de vegetales. Fue determinada según el sistema de clasificación de Engler y Prantel, modificado por Melchior⁵⁶, en 1964. Dicha clasificación se realizó en el Museo de Historia Natural – Herbario de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Ver anexo 5.

3.6.4 Tratamiento de la muestra

Luego de seleccionar la parte de la planta a analizar, se lavaron y desinfectaron eliminando los microorganismos o materia orgánica adherida, se trataron con abundante agua corriente y con hipoclorito de sodio al 1% o 100 ppm durante 3 a 5 minutos.

3.6.5 Obtención del extracto

Las principales técnicas extractivas son: maceración, lixiviación o percolación, digestión, infusión, destilación y extracción continua. En esta investigación el método utilizado para realizar el extracto de *Diospyros kaki* Thumb (*caqui*).

3.6.6 Maceración

Se seleccionaron los frutos de *Diospyros kaki* Thumb (*caqui*); y se procedió a poner el mismo en un balón de fondo plano para luego ser llevado a una plancha de calentamiento a una temperatura de 45° C, y mediante una extracción de reflujo (24 horas) para poder así poder extraer sus metabolitos sin alterarlos. Ver fotos 6-7.

Una vez culminada la extracción acuosa por reflujo se filtró la muestra en un embudo buchner acoplada a una bomba al vacío para generar presión al momento de la extracción. Aquí se obtiene el extracto líquido del *Diospyros kaki* Thumb. Ver foto 8-13.

Obtenido el extracto líquido, una parte es destinada para la prueba de Solubilidad, es decir el extracto líquido es vertido en una bandeja de vidrio (pírex) para ser llevado a la estufa a una temperatura de 40° C, por un tiempo de 24 horas, al transcurrir el tiempo es sacada de la estufa y recolectada en un recipiente hermético protegido de la luz y guardada a temperatura de 2 a 8 °C hasta su utilización.

3.6.7 Screening Fitoquímico

Para la realización de esta prueba fue necesario conocer, que existen una serie de métodos para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos, aplicados en los diversos órganos de las plantas a analizar, basándose en la extracción con los solventes adecuados, ya que este estudio es de coloración y precipitación. Para la evaluación se hicieron pruebas para metabolitos Primarios y Secundarios, usando los siguientes reactivos. Ver fotos 13 – 21.

3.6.8 Pruebas para metabolitos secundarios

3.6.8.1 Prueba para Alcaloides:

El término Alcaloide fue propuesto por W. Meissner en 1819, siendo aplicado a compuestos básicos de origen natural que presentan nitrógeno en su estructura. Ver tabla 8

Se utiliza reactivos generales porque tienen importancia en los métodos de búsqueda, aislamiento, purificación e incluso identificación, estos reactivos se agrupan en dos grandes grupos como son: reactivos de precipitación y reactivos de coloración.

• Reactivos de Precipitación

Reactivos Yodados: Precipitan a los alcaloides de las soluciones acuosas ácidas, bajo la forma de poliyodatos complejos, como son:

- **Reactivo de Wagner**
(yodo-yoduro de potasio), da una coloración marrón cuando se agrega de 3 a 5 gotas. Ver tabla 8.

- **Reactivo de Mayer**
(Yoduro de mercurio y potasio), da una coloración blanca a crema cuando se adiciona unas 3 a 5 gotas a la solución acidulada del extracto. Ver tabla 8.

- **Reactivo de Dragendorff**

(Yoduro de bismuto y potasio), da una coloración roja a naranja cuando se adiciona unas 3 a 5 gotas a la solución acidulada del extracto.

Con estos reactivos se obtienen combinaciones amorfas, coloreadas, a veces solubles en exceso de reactivo. Ver tabla 8.

- **Reactivos de Coloración**

Se utiliza para identificar y dosificar a los alcaloides, se emplea ácidos minerales concentrados especialmente el Sulfúrico.

Para la Doctora Olga Lock sobre el extracto a evaluar, se considera que hay presencia de alcaloides si se obtienen cuatro resultados positivos de los ya citados.

3.6.8.2 Prueba para Flavonoides y Compuestos Fenólicos:

Para las pruebas de flavonoides y compuestos fenólicos se tomará en cuenta la reacción de Bortranger (hidróxido de sodio al 5%), Shinoda, cloruro férrico y gelatina al 1%. Ver tabla 8.

Cabe mencionar que este grupo de metabolitos contiene en su estructura a las antraquinonas y naftoquinonas; la prueba de gelatina al 1% es para taninos que ya sea que sea condensado es un flavonoide llamado antocianina y si es hidrolizables son formados por ácidos fenólicos.

- **Reactivo de Shinoda**

(Limaduras de magnesio + HCl concentrado), da coloraciones amarillas a rojas (flavonas y flavonoles), si la coloración es roja a magenta (flavononales), si son coloraciones rojo, violeta o azul (flavononas), si son amarillos (isoflavonas), si esta no presenta

coloración pueden ser isoflavononas, chalconas y auronas. Ver tabla 8.

- **Reactivo de Cloruro Férrico**
(Cloruro férrico disuelto en agua), darán coloraciones azul, verde o negra cuando se agrega de 3 a 5 gotas, prueba general. Ver tabla 8.

- **Reactivo de Gelatina al 1%**
(Gelatina + cloruro de sodio), da un precipitado blanco cuando se agrega de 3 a 5 gotas, prueba para taninos.

- **Reactivo de Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger)**
Da una coloración roja al agregar de 3 a 5 gotas, prueba para identificar la presencia de Antraquinonas y Naftoquinonas.

3.6.8.3 Reactivos formados por Poliácidos minerales complejos:

Precipitan a los alcaloides en medio ácido o neutro bajo la forma de compuestos amorfos o cristalinos, los cuales se descomponen en medio alcalino, regenerándose los alcaloides al estado de base, como son:

- **Reactivo de Scheibler**
(Ácido fosfoWolfrámico), da una coloración blanca cuando se agrega de 3 a 5 gotas. Ver tabla 8.

- **Reactivo de Sonneschein**
(Ácido fosfomolibdico), da una coloración naranja cuando se agrega de 3 a 5 gotas. Ver tabla 8.

3.6.8.4 Otros reactivos de precipitación: como son:

- **Reactivo de Reineckato**

$(\text{NH}_4 [\text{Cr} (\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]2\text{H}_2\text{O})$, da un precipitado floculante colorosa cuando se agrega de 3 a 5 gotas. Ver tabla 8.

- **Prueba para Aminoácidos**

La prueba para la identificación de Aminoácidos es evidenciable por la reacción del reactivo de Ninhidrina con la muestra.

- **Reactivo de Ninhidrina**

Se le agrega de 3 a 5 gotas a la muestra e inmediatamente es llevada a calentar, la presencia de una coloración rosada medio lila es positiva para aminoácidos.

3.6.9 Pruebas para metabolitos primarios

3.6.9.1 Prueba para Glúcidos:

Son polisacáridos más comunes en las plantas, se encuentran asociados a las ligninas e integran el material estructural de la pared celular. Se usó reactivo Fehling A y B.

- **Reactivo de Fehling A y B**

A la muestra de le añade 5 mL de Fehling A y B y se lleva a baño maría la presencia de un precipitado anaranjado ladrillo nos da la presencia de Glúcidos en la muestra. Ver tabla 9.

3.6.9.2 Prueba para Almidón:

El almidón es la mezcla de dos polímeros como son la Amilosa y la Amilopectina. Se usó reactivo de Lugol.

- **Reactivo de Lugol**

A la muestra se le añade 3 gotas de Lugol, si presenta una coloración oscura nos da la presencia de almidón en la muestra. Ver tabla 9.

Tabla 8: Identificación de metabolitos secundarios

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS			
Metabolitos secundarios	Reactivo de identificación	Resultado para <i>Dyospiros kaki</i> Thumb	
ALCALOIDES	Mayer	Precipitado blanco	(+++)
	Wagner	Precipitado marrón	(++)
	Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	(+++)
	Scheibler	Precipitado o Color blanco	(+++)
	Sonneschein	Precipitado naranja	(-)
	Reineckato	Color rosa	(++)
Compuestos fenólicos y Flavonoides	Shinoda	Color rojo	(+)
	Cloruro férrico	Color verde	(++)
	Gelatina al 1%	Precipitado blanco	(+)
Aminoácidos	Reacción de Bortranger	Color rojo	(-)
	Ninhidrina	Color rosado	(+++)

Fuente: Propia

Tabla 9: Identificación de metabolitos primarios

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS			
Metabolitos primarios	Reactivo de Identificación	Resultado para <i>Dyospiros kaki</i> Thumb	
Glúcidos	Fehling A y B	Precipitado anaranjado ladrillo	(+++)
Aminoácidos	Lugol	Coloración oscura	(+)

Fuente: Propia

Dónde:

(-) La coloración o precipitado no se evidencia

(+) La coloración o precipitado se evidencia poco

(++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente

(+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente

3.7 Prueba de Solubilidad

Para esta prueba de Solubilidad sacamos de refrigeración el extracto seco de *Diospyros kaki* Thumb y tomamos una pequeña cantidad de muestra y la colocamos en seis (06) tubos de ensayo; cinco para los solventes y uno como control, se vierte de 3 a 5 mL de los solventes como (Alcohol de 96°, Etanol, Agua, Cloroformo y Metanol) esta prueba nos da referencia en que solventes es más soluble la muestra a tratar.

Debemos tener en cuenta la Polaridad del disolvente por que este le da propiedades de solubilización en diferentes solutos. Ver tabla 10 y foto 22.

Tabla 10: Prueba de Solubilidad

PRUEBA DE SOLUBILIDAD		
Solventes	Extracto seco del fruto de <i>Diospyros kaki</i> Thumb	Resultado de Solubilidad
Alcohol 96 °C	Extracto seco en tubos de ensayo	(-)
Etanol		(-)
Agua		(+++)
Cloroformo		(-)
Metanol		(-)
Etanol		(-)

Fuente: Propia

Donde:

(-) La solubilidad no se visualiza

(+) La solubilidad en menor grado

(++) La solubilidad es moderada

(+++) La solubilidad es mayor

3.8 Prueba Cromatografía en Capa Fina

Para las pruebas de cromatografía en capa fina es un método muy empleado en la actualidad para la separación de mezclas de toda clase de productos naturales.⁵⁸ Su principal ventaja es la versatilidad, velocidad y sensibilidad, al hablar de versatilidad nos referimos al empleo de una variedad de adsorbentes, aunque es la Sílica gel la que se usa mayoritariamente.

La velocidad es debida a la naturaleza compacta del soporte cuando este se embebe, y por último la sensibilidad está dada, si se desea se pueden separar cantidades del orden en microgramos.

La detección de los compuestos separados generalmente se realiza por métodos generales o específicos, la luz UV permite detectar sustancias que absorben a la longitud de onda larga 365nm y de onda corta a 254 nm.⁵⁸

3.8.1 Cromatografía en capa fina (Alcaloides)

Para la prueba de cromatografía se usó una placa cromatografía de la marca Merck (TLC Silica gel F₂₅₄) como fase estacionaria, para nuestro solvente de elución fue Metanol: Agua en proporción de (25:75) respectivamente, y se usó una jeringa en µL para la inoculación de la muestra.

Para la comparación se usó un estándar de Cafeína en concentración de 10 mg/mL. Se inyectó 5 µL, caso similar ocurrió con la muestra de *Diospyros kaki* Thumb. Una vez contenida la placa cromatografía las dos inyecciones es sumergida en la fase móvil, donde procederá a la separación de los metabolitos por absorción y polaridad, una vez culminada la elución del activo se saca la placa cromatografía y se lleva a una plancha de calentamiento hasta evaporar el solvente, caso seguido se evidencia las manchas de desplazamiento en la luz UV 254 nm.

Para la identificación de alcaloides en la muestra se rocía ácido sulfúrico a 2 % y luego el reactivo de Dragendorff, como revelador, para una evidencia positiva se tiene que ver manchas naranjas.

Las muestras en análisis de *Diospyros kaki* Thumb dio positivo para alcaloides, cabe decir que es una confirmación del screening fitoquímico.

3.8.2 Cromatografía en capa fina (Flavonoides)

Para la prueba de cromatografía en capa fina para alcaloides se usó una placa cromatografía de la marca Merck (TLC Silica gel F₂₅₄) como fase estacionaria, para nuestro solvente de elución fue (Butanol – Agua - Ácido acético glacial) en proporción de (20:15:5) respectivamente, esta mezcla se puso en una pera de bromo de 250 mL y se agito, se evidencia la formación de dos fases, la fase móvil es la menos densa. También se usó una jeringa en µL.

Para la comparación se usó un estándar de Quercetina en concentración de 10 mg/mL el cual se inyectó 5 µL a la placa cromatográfica, caso similar con la muestra de *Dyospiros kaki* Thumb.

Una vez terminada la corrida de la muestra es secada en una plancha de calentamiento, hasta evaporación del solvente, se evidencia las manchas en la luz UV a 254 nm, y se usa como revelador el tricloruro de aluminio, para una muestra positiva es característico de manchas amarillas.

La muestra de *Diospyros kaki* Thumb fue positivo para flavonoides.

3.9 Prueba de espectrofotometría en el UV-vis para la cuantificación de flavonoides totales

3.9.1 Método de Flavonoides Totales:

Para la realización de la prueba se tiene una concentración de 1 mg/mL de estándar Quercetina, se hace diluciones para obtener concentraciones de 0.024, 0.1 y 0.2 mg/mL en fiolas de 50 mL y se enrasan con etanol.

Después a cada concentración se le toma 2 mL de alícuota y se le agrega 6 mL de etanol + 0.4 mL del reactivo de tricloruro de aluminio al 2% + 0.4 mL del reactivo de acetato de sodio 1M y agua cantidad suficiente para 20 mL de volumen total. Se incuba por 30 minutos.

Para la muestra se toma una alícuota de 0.2 mL del extracto acuoso y se agrega 6 mL de etanol + 0.4 mL del reactivo de tricloruro de aluminio al 2% + 0.4 mL del reactivo de acetato de sodio 1M y agua cantidad suficiente para 20 mL de volumen total. Se incuba por 30 minutos.

Para las lecturas en el espectrofotómetro UV-VIS se considera una longitud de onda de 415 nm.

Los resultados fueron los siguientes:

Se obtuvo 2.77 mg de Quercetina / mL de extracto; es decir que los flavonoides totales se expresan en miligramos equivalentes de Quercetina por mililitros de extracto. Ver fotos 30- 32.

3.10 Procedimiento Experimental (etapa II)

El presente trabajo tuvo como objetivo, primero la evaluación de la determinación de la Toxicidad Aguda Dermal, para analizar si la muestra en estudio causa mortalidad y segundo la determinación de la Actividad Cicatrizante con el modelo de heridas incisas. Ambas pruebas se desarrollaron en conejos

En el ensayo farmacológico la aplicación de la muestra fue por la vía dermal, tópicamente.

En la prueba de toxicidad dermal la muestra fue aplicada en el porcentaje más alto, de todas las presentaciones, es decir al 20%.

En la prueba de actividad cicatrizante el tratamiento de las cremas al 20%, 15%, 10% fue por 21 días consecutivos posteriores a la generación de heridas que se

hicieron en el lomo del animal. Se tomaron las medidas de cierre en los días, 0,7, 14 y 21. Al final de la prueba se analizaron las áreas medidas durante el ensayo. La muestra ensayada presenta Actividad cicatrizante en el modelo estudiado, en las presentaciones al 20 % y 15%. Ver fotos de 46 – 83.

3.10.1 Preparación de la crema en base a “*Diospyros kaki* Thumb”

Para la preparación de la crema se contó con los siguientes excipientes que se describieron en la tabla 11.

Tabla 11: Preparación de Crema cicatrizante a base de *Diospyros kaki* Thumb

Crema Cicatrizante de <i>Diospyros kaki</i> Thumb	
Insumos o Excipientes	Cantidad en porcentaje
Vaselina Liquida	2%
Vaselina solida	4.0%
Alcohol cetoestearilico	1.5%
Galenol	5.0%
Alcohol bencílico	0.1%
Glicerina	2.0%
Propilenglicol	2.5%
Agua csp.	100 g

Fuente propia

La preparación estuvo constituida de dos fases; una fase oleosa y la otra acuosa, en la fase Oleosa (Vaselina liquida, Vaselina sólida, Alcohol cetoesterealico y Galenol) y para la fase Acuosa (Alcohol bencílico, Glicerina y agua).

Se preparó por separado la fase Oleosa de la Acuosa, vertiendo los excipientes en un beacker de 250 mL y a una temperatura de 70° C, una vez mezclado cada fase, estas se mezclan a una temperatura de 50° C, y es donde se agrega el Propilenglicol + Muestra de *Diospyros kaki* Thumb en polvo liofilizado.

Se hicieron potes de 30 gramos de crema y en concentraciones de 10%, 15% y 20%. Ver tabla 12 y foto 35.

Tabla 12: Formulación en base a Cantidad de Principio Activo

Formulación		
Concentraciones	Crema Cicatrizante	Cantidad de Activo
10%	30 gramos	3.0 g.
15%	30 gramos	4.5 g.
20%	30 gramos	6.0 g.

Fuente propia

Para la constitución de la crema cicatrizante se tomó ciertos criterios como son:

- **Vaselina líquida y sólida**, ambos se utilizaron como humectantes para evitar la pérdida de agua.
- **Alcohol cetosteárico**, (es un estabilizante de emulsión), es una cera de alto peso molecular, el estado físico-químico es sólido este le confiere a la crema estabilidad, fluidez o turgencia a la crema.
- **Galenol**, es una mezcla de ácidos grasos de 16 y 18 carbonos, es característico por ser un Tensio activo, es decir, ayuda a la reducción de la resistencia entre las micelas de aceite en agua.
- **Alcohol bencílico**, es un preservante para Gram (-) y Gram (+) y hongos.
- **Glicerina**, es un humectante.

3.10.2 Determinación Toxicidad aguda dermal

Se determinó la Toxicidad Aguda por vía dermal en conejos, según Guía OECD – Test 402 y la Actividad Cicatrizante con el modelo de heridas incisas, según el Manual de Ensayos Farmacológicos y Toxicológicos In vivo.

3.10.3 Animales de experimentación

Fueron usados conejos albinos machos, *Oryctolagus cuniculus*, de 2 meses de edad con un peso promedio de 2.20 kg; provenientes del Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El proceso de cuarentena para la aclimatación a las condiciones ambientales y conductuales fue de cinco días.

El total de animales para todo el ensayo fueron distribuidos de la siguiente forma:

- Para la prueba de toxicidad aguda dermal: 5 conejos.
- Para la Actividad cicatrizante 6 conejos, para cada dosis.

3.10.4 Dosificación y tratamiento

Toxicidad aguda dermal. 24 horas antes del inicio de la prueba, se depilo al conejo en el lomo, usando tijeras y crema depilatoria, marca Veet. Este tiempo se usa para que la piel del animal no presente ninguna alteración. La prueba incluyó un tratamiento, es decir la muestra al 20%.

El volumen de aplicación dermal fue de 1 ml, en dosis única. La mortalidad fue observada durante las primeras 72 horas y luego diariamente hasta los 14 días, para verificar además si se presentan efectos adversos.

Tabla 13. Fórmula unitaria 1 (Crema base, Control Negativo)

Componente		Fórmula unitaria para (100 gr) %
OLEOSA	Vaselina Liquida	2.0%
	Glicerina	2.0%
	Vaselina sólida	4.0%
ACUOSA	Alcohol cetoestearílico	1.5%
	Galenol	5.0%
	Alcohol Bencílico	0.1%
	Propilenglicol	2.5%
	Agua destilada	59.83%
Total		100%

Tabla 14. Fórmula unitaria 2 (Crema a base de *Diospyros kaki* Thumb 10%)

Componente		Fórmula unitaria para (100 gr) %
PRINCIPIO ACTIVO	<i>Diospyros kaki</i> Thumb	10%
OLEOSA	Vaselina Liquida	2.0%
	Glicerina	2.0%
	Vaselina sólida	4.0%
ACUOSA	Alcohol cetoestearílico	1.5%
	Galenol	5.0%
	Alcohol Bencílico	0.1%
	Propilenglicol	2.5%
	Agua destilada	59.83%
Total		100%

Tabla 15. Fórmula unitaria 4 (Crema a base *Diospyros kaki* Thumb 15%)

Componente		Fórmula unitaria para (100 gr) %
PRINCIPIO ACTIVO	<i>Diospyros kaki</i> Thumb	15%
OLEOSA	Vaselina Liquida	2.0%
	Glicerina	2.0%
	Vaselina sólida	4.0%
ACUOSA	Alcohol cetosteárilico	1.5%
	Galenol	5.0%
	Alcohol Bencilico	0.1%
	Propilenglicol	2.5%
	Agua destilada	59.83%
Total		100%

Tabla 16. Fórmula unitaria 3 (Crema a base de *Diospyros kaki* Thumb 20%)

Componente		Fórmula unitaria para (100 gr) %
PRINCIPIO ACTIVO	<i>Diospyros kaki</i> Thumb	20%
OLEOSA	Vaselina Liquida	2.0%
	Glicerina	2.0%
	Vaselina sólida	4.0%
ACUOSA	Alcohol cetosteárilico	1.5%
	Galenol	5.0%
	Alcohol Bencilico	0.1%
	Propilenglicol	2.5%
	Agua destilada	59.83%
Total		100%

Fuente propia

3.11 Evaluación de la Actividad Cicatrizante con el Modelo de heridas incisas

El ensayo comprendió un total de seis grupos de experimentación. Los tratamientos y sus respectivos valores de concentración ensayados son detallados en la siguiente tabla 17.

Tabla 17: Tratamientos de experimentación con “*Diospyros kaki* Thumb”

Grupo	Animales	Dosis
Control negativo	1	---
Control positivo (Cicatricure)	1	40 mg/kg
Dosis 2	1	10%
Dosis 3	1	15%
Dosis 4	1	20%

3.12 Animales de experimentación:

Grupo I (Blanco): Animales sometidos a incisión aplicándoles tópicamente en el lomo la crema fórmula # 1. (Control Negativo). Ver tabla 13.

Grupo II: Animales sometidos a incisión aplicándoles tópicamente en el lomo la crema fórmula # 2 (Crema *Diospyros kaki* Thumb 20%). Ver tabla 16.

Grupo III: Animales sometidos a incisión aplicándoles tópicamente en el lomo la crema fórmula #3. (Crema *Diospyros kaki* Thumb 15%). Ver tabla 15.

Grupo IV: Animales sometidos a incisión aplicándoles tópicamente en el lomo la crema fórmula # 4 de la mezcla. (Crema *Diospyros kaki* Thumb 10%). Ver tabla 14.

Grupo V: Animales sometidos a incisión aplicándoles tópicamente en el lomo la crema control (Cicatricure).

Todos los animales fueron identificados con diferentes colores y números; estando constituido cada grupo de trabajo y control por 6 conejos.

3.13 Fase de campo

La recolección del material vegetal se realizó en el departamento de Huaral, provincia de Lima, donde se recolectaron los frutos de *Diospyros kaki* Thumb. Estos fueron etiquetados y trasladados al laboratorio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Previamente estuvo definido el grupo de conejos a utilizarse para las pruebas de sensibilidad. Dichos conejos atravesaron varias fases en el proceso de experimentación que son las siguientes:

1° Etapa: Adaptación:

Una vez adquirido los animales de 1 a 3 Kg de dos meses de edad, se los adapta al ambiente y al lugar donde permanecerán durante el periodo de los análisis, esto fueron jaulas o cepos que resultaron los más cómodo posible para que el animal pueda movilizarse sin ningún inconveniente para no causarle estrés. Se cambiaron las camas pasando un día ya que se tuvo al animal en condiciones asépticas para evitar enfermedades.

El animal fue adaptado con un tipo de comida como pellets y agua en cantidad suficiente de acuerdo con el tamaño del animal.

2° Etapa: Preparación del animal

En esta fase el animal se encuentra completamente adaptado y cómodo en su hábitat y está bien alimentado con suficiente comida.

Es donde se realizó la rasurada de la lana del animal 24 horas antes de iniciarse la experimentación, la cual se realizó a los dos lados de la columna vertebral y limpiando la zona para posterior aplicación del producto.

3° Etapa: Experimental

En esta etapa el animal fue tratado de la manera más humana posible y cuidadosa para no provocarle un sufrimiento innecesario. La prueba no prestó como para ocasionarle muerte del animal ya que se recupera fácilmente.

La aplicación del producto se realizó cada 2, 4, 12 y 24 horas, para poder evaluar con mayor claridad los efectos del producto.

4° Etapa: Recuperación

Representa la recuperación propia del animal en el cual fue liberada y utilizada para pruebas posteriores sin ningún posible daño. Si el animal presenta laceraciones profunda en la piel y sin solución, se requiere que al animal se le practique un sacrificio para evitar su sufrimiento y contagiar a otros animales.

Las exigencias de los animales de experimentación para su almacenamiento:

Tabla 18. *Exigencias y condiciones de los animales de experimentación*

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN			
ESPECIE	Conejos albinos	CEPOS	Metálicos individuales
PESO	Entre 1 a 3 Kg	TIEMPO DE LA PRUEBA	Máximo 10 minutos
SEXO	Indistinto	EVALUACIÓN	Al instante de remover el parche, a las 2, 4 y 12 horas de iniciada la prueba.
VALIDACIÓN	Por triplicado	TEMPERATURA	22 °C
PIEL	Sin laceraciones	CALIFICACIÓN	Presencia o ausencia de edema e irritación
HUMEDAD	50.5%	ALIMENTACIÓN	Agua y pellets en cantidad suficiente.

3.14 Fase de laboratorio

En el laboratorio se realizó el siguiente procedimiento para determinar la actividad hidratante de la crema.

3.14.1 Aplicación de la crema a base de *Diospyros kaki* Thumb

Una vez elaborada la crema con *Diospyros kaki* Thumb se procedió a realizar pruebas in vivo en animales de experimentación que son los conejos.

Se emplearon 35 conejos de raza New Zealand de 2 Kg de peso promedio, los mismos que fueron distribuidos en 5 grupos de seis animales con peso similar.

Se mantuvieron por siete días en jaulas individuales, el alimento establecido fue pesado y su ingesta diaria fue de 1.5 / 10 g. de peso,

Después de este tiempo se depiló la zona evaluada, 24 horas antes de la incisión de la piel, utilizando crema depilatoria, después 24 horas, se realizaron los raspados con la ayuda de un rasurador en el dorso del animal hasta producir enrojecimiento y sequedad.

Se aplicó la crema elaborada de *Diospyros kaki* Thumb, realizándose 2, 4, 12 y 24 horas para comprobar la actividad.

Se registra el número de veces y las reacciones o el diámetro de Sangrado, coagulación y enrojecimiento que presenta el área expuesta al producto, de la misma manera se comprueba con una crema control que en este caso fue Cicatricure.

3.15 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Técnica

La técnica empleada en la presente investigación fue la de observación de tipo experimental participante, controlada por el investigador en el laboratorio debido que puede manipular las variables.

Instrumento

El instrumento fue una ficha de observación elaborada por los investigadores, basándose en los indicadores de las variables para establecer el instrumento.

(Anexo 2). En la presente investigación se utilizó como instrumento la hoja o ficha de registro de datos.

3.16 PROCESAMIENTO DE DATOS

En la presente investigación se procedió a codificar y generar una base de datos haciendo uso del software estadístico SPSS ver. 23, por Windows 10, con el fin que tenga consistencia la información levantada de la ejecución del instrumento de investigación.

En segundo lugar, se procedió a utilizar el análisis descriptivo con el fin de describir y caracterizar cada una de las variables haciendo uso de medidas de tendencia central (media) y de dispersión (varianza, desviación estándar), así como el análisis frecuencial y gráficos de líneas.

Para contrastar la hipótesis se utilizó el Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor que permite comprobar la variación que existe entre los grupos (intergrupos) y dentro de los grupos (intragrupos); una vez entendido que existe diferencia estadísticamente significativa entre los 3 grupos; se decidió observar si existen diferencias por pares de grupos; para ello se decidió utilizar la prueba de comparaciones múltiples de Tukey al 1 % de significancia estadística, dado que el grupo de comparaciones es grande y el tamaño muestral de los diferentes grupos son similares; esto nos permitirá establecer entre que grupos, específicamente, se encuentran diferencias.

Estas pruebas nos permitirán evaluar el efecto cicatrizante de la crema a base ***Diospyros kaki*** Thumb; asimismo, para el cumplimiento del supuesto de normalidad, prueba necesaria para poder aplicar el análisis de ANOVA en nuestros datos, se hizo uso de la prueba de Turkey al 5%.

3.16.1 Prueba estadística

Análisis estadístico usando pruebas Anova:

Es el más simple de todos los diseños ya que se puede comparar cualquier número de tratamientos que se aplican a las unidades experimentales al azar con cualquier número de repeticiones es posible, mejor estimación del error experimental que otro diseño.

Procedimiento estadístico que sirve para medir la variación total de las observaciones a la que se divide para sus componentes quedando el residuo como error experimental.

Separación de medias utilizando la prueba de Tukey al 5%:

La prueba de Tukey es el procedimiento empleado para determinar las diferencias que existen entre las medias de los tratamientos realizados.

Análisis de Varianza:

Es el procedimiento estadístico que nos sirve para medir la variación total de las observaciones, la que se divide para sus componentes, quedando el residuo como error experimental. Este análisis nos indica la relación entre una variable dependiente (actividad hidratante o Cicatrizante) y los factores independientes (concentraciones y tiempos de aplicación de la crema elaborada). **El análisis de varianza es un método en el que se puede comparar dos o más medias de las observaciones o de los tratamientos, además nos permite medir la variación de las respuestas numéricas como valores de evaluación de diferentes variables nominales.**

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Presentación de resultados. Los resultados obtenidos se evidencian en la tabla 20.

4.2 CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Se realizó la contratación de las hipótesis planteadas para la ejecución de la presente investigación, considerando a la hipótesis general:

“La crema a base de *Diospyros kaki* Thumb tiene efecto hidratante en piel irritada de conejos”.

Debido a la complejidad de las variables de medición, está se subdividió en hipótesis específicas.

4.2.1 Contrastación de Hipótesis Específicas:

Para poder entender de manera precisa el presente estudio, se analizó de manera separada sus hipótesis específicas, las cuales fueron:

HE2: Los tiempos de aplicación de la crema a base del extracto de *Diospyros kaki* Thumb, influyen directamente en el efecto cicatrizante en incisión de piel de conejos New Zealand. Ver tablas 21 y 22.

HE3: Los tiempos de cicatrización de la crema a base de extracto de *Diospyros kaki* Thumb influyen directamente en el efecto hidratante en la incisión sobre la piel de conejos New Zealand. Ver tablas 21 y 22.

HE4: La crema a base de extracto de *Diospyros kaki* Thumb posee efecto cicatrizante comparado con Cicatricure, en la incisión de la piel de conejos New Zealand.

Tabla 20. Tiempos de absorción de las diferentes formulaciones de la crema *Diospyros kaki* Thumb en los conejos de experimentación

N°_conej	Formul_crem	T_abs_min_A	T_abs_min_B	T_abs_min_C	T_abs_min_D
1	1	3.14	3.12	3.1	3.15
2	1	3.04	3.11	3.12	3.2
3	1	3.1	3.09	3.01	3.21
4	1	3.05	3.1	3.04	3.22
5	1	3.08	3.67	3.06	3.24
6	1	3.02	3.89	3.09	3.25
7	2	2.21	2	2.7	3.1
8	2	2.23	3.1	2.6	3.87
9	2	2.26	2.18	2.65	2.66
10	2	2.28	2.4	3.68	3.55
11	2	2.27	2.8	3.98	3.5
12	2	2.31	3	3.56	3.43
13	3	2.12	2.34	2.33	2.36
14	3	2.14	2.31	2.22	2.47
15	3	2.15	2.32	2.24	2.47
16	3	2.16	2.52	2.54	2.56
17	3	2.1	2.45	2.55	2.35
18	3	2.18	2.56	2.66	2.45
19	4	1.9	2.24	2.2	2.34
20	4	1.85	2.35	2.25	2.56
21	4	1.94	2.67	2.27	2.67
22	4	1.92	2.24	2.29	2.56
23	4	1.86	2.34	2.3	2.67
24	4	1.93	2.2	2.25	2.8
25	5	2.34	3.56	3.87	3.89
26	5	2.56	3.78	3.76	3.65
27	5	2.78	3.67	3.73	3.76
28	5	2.57	3.84	3.54	3.87
29	5	2.67	3.45	3.25	4
30	5	2.46	3.78	3.52	3.98

Fuente propia

4.2.2 Contrastación de Hipótesis Específica 2

La hipótesis específica 2 corresponde a:

“Los tiempos de aplicación de la crema a base del extracto de *Diospyros kaki* Thumb, influyen directamente en el efecto cicatrizante en la incisión sobre la piel de conejos New Zealand.”.

A fin de poder realizar la docimasia de esta hipótesis, se realizó el ritual de significancia estadística, para lo cual se sugirió una secuencia ordenada de pasos:

I.- Formulación de Hipótesis Estadística

H₀: El efecto cicatrizante es igual en todos los tiempos de aplicación.

H₁: El efecto cicatrizante es diferente en todos los tiempos de aplicación.

II.- Establecer el Nivel de Significancia.

Para la presente investigación se decidió trabajar con un nivel de confianza del 95%, correspondiente a un nivel de significancia (α) de 5% = 0.05.

III.- Determinación del Estadígrafo a Emplear

Al tratarse de una variable cuantitativa, se estableció la necesidad de utilizar estadígrafos para más de dos muestras relacionadas. A fin de poder identificar el estadígrafo idóneo para el análisis, se cumplió con los siguientes supuestos:

Determinación de la Distribución Normal de los Datos

Para esto se ejecutó de la prueba Kolmogorov-Smirnov, al tratarse de un tamaño muestral superior a 30 unidades muestrales por cada momento, se trabajó bajo las siguientes hipótesis de prueba:

H₀: *El efecto cicatrizante en todos los tiempos de aplicación sigue una distribución normal.*

H₁: *El efecto cicatrizante en todos los tiempos de aplicación no sigue una distribución normal.*

Tabla 21. Análisis de la distribución de los tiempos de aplicación de cada formulación de la crema

	Formulaciones	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
Cada 2 horas	1	,189	6	,200*
	2	,427	6	,001
	3	,143	6	,200*
	4	,204	6	,200*
	5	,158	6	,200*
Cada 4 horas	1	,389	6	,005
	2	,187	6	,200*
	3	,260	6	,200*
	4	,304	6	,087
	5	,247	6	,200*
Cada 12 horas	1	,187	6	,200*
	2	,290	6	,125
	3	,237	6	,200*
	4	,223	6	,200*
	5	,203	6	,200*
Cada 24 horas	1	,204	6	,200*
	2	,241	6	,200*
	3	,201	6	,200*
	4	,232	6	,200*
	5	,201	6	,200*

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Al encontrarse algunos resultados con un P-Valor menor a 0.05, se rechazó la hipótesis nula, por lo que declararemos que se ha establecido la distribución no normal de los datos, lo que sustenta la certeza del uso de otra prueba estadística.

IV.- Estimación del P-Valor

Se compara las medias de la variable cuantitativa en cada uno de los grupos que conforma cada estrato o categoría de la variable nominal, por ello se utilizó un modelo matemático más amplio: el Análisis de la Varianza (ANOVA de una vía), que va a permitir explorar entre qué grupos concretos están o no esas diferencias (a través de los llamados “contrastos a posteriori”).

Tabla 22. Prueba de ANOVA para determinar el Tiempo de aplicación

		Suma	de	Media		
		cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Cada 2 horas	Entre grupos	4,915	4	1,229	210,272	,000
	Dentro de grupos	,146	25	,006		
	Total	5,061	29			
Cada 4 horas	Entre grupos	8,646	4	2,162	27,290	,000
	Dentro de grupos	1,980	25	,079		
	Total	10,626	29			
Cada 12 horas	Entre grupos	7,551	4	1,888	20,413	,000
	Dentro de grupos	2,312	25	,092		
	Total	9,863	29			
Cada 24 horas	Entre grupos	7,991	4	1,998	44,411	,000
	Dentro de grupos	1,125	25	,045		
	Total	9,116	29			

En la tabla 22, se puede observar la Prueba de ANOVA realizada, en la comparación de los grupos el valor de p 0.000 es menor a 0.05 rechazando la hipótesis nula de igualdad de medias entre las muestras, lo cual indica que al menos una formulación es diferente. Por lo que se realizó la comparación múltiple mediante la prueba de Tukey.

Tabla 23. Prueba de Tukey para determinar el Tiempo de aplicación cada 2 horasHSD Tukey^a

Formulaciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
4	6	1,9000			
3	6		2,1417		
2	6		2,2385		
5	6			2,5633	
1	6				3,0717
Sig.		1,000	,215	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

En la tabla 23, se muestran los resultados obtenidos en la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%. Los tratamientos se dividieron en 4 subconjuntos, existiendo una diferencia significativa entre la crema base y la mezcla. La formulación control, con *Diospyros kaki* Thumb no presentan diferencias, es decir, tiene efecto cicatrizante comparado con la crema cicatricure.

Tabla 24. Análisis de la distribución de los tiempos de aplicación de cada formulación de la crema

	Formulaciones	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
Cada 2 horas	1	,189	6	,200*
	2	,427	6	,001
	3	,143	6	,200*
	4	,204	6	,200*
	5	,158	6	,200*
Cada 4 horas	1	,389	6	,005
	2	,187	6	,200*
	3	,260	6	,200*
	4	,304	6	,087
	5	,247	6	,200*
Cada 12 horas	1	,187	6	,200*
	2	,290	6	,125
	3	,237	6	,200*
	4	,223	6	,200*
	5	,203	6	,200*
Cada 24 horas	1	,204	6	,200*
	2	,241	6	,200*
	3	,201	6	,200*
	4	,232	6	,200*
	5	,201	6	,200*

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Al encontrarse algunos resultados con un P-Valor menor a 0.05, se rechazó la hipótesis nula, por lo que declararemos que se ha establecido la distribución no normal de los datos, lo que sustenta la certeza del uso de otra prueba estadística.

IV.- Estimación del P-Valor

Se compara las medias de la variable cuantitativa en cada uno de los grupos que conforma cada estrato o categoría de la variable nominal, por ello se utilizó un modelo matemático más amplio: el Análisis de la Varianza (ANOVA de una vía), que va a permitir explorar entre qué grupos concretos están o no esas diferencias (a través de los llamados “contrastes a posteriori”).

Tabla 25. Prueba de ANOVA para determinar el Tiempo de aplicación

		Suma de	de	Media		
		cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Cada 2 horas	Entre grupos	4,915	4	1,229	210,272	,000
	Dentro de grupos	,146	25	,006		
	Total	5,061	29			
Cada 4 horas	Entre grupos	8,646	4	2,162	27,290	,000
	Dentro de grupos	1,980	25	,079		
	Total	10,626	29			
Cada 12 horas	Entre grupos	7,551	4	1,888	20,413	,000
	Dentro de grupos	2,312	25	,092		
	Total	9,863	29			
Cada 24 horas	Entre grupos	7,991	4	1,998	44,411	,000
	Dentro de grupos	1,125	25	,045		
	Total	9,116	29			

En la tabla 25, se puede observar la Prueba de ANOVA realizada, en la comparación de los grupos el valor de p 0.000 es menor a 0.05 rechazando la hipótesis nula de igualdad de medias entre las muestras, lo cual indica que al menos una formulación es diferente. Por lo que se realizó la comparación múltiple mediante la prueba de Tukey.

Tabla 26. Prueba de Turkey para determinar el Tiempo de aplicación cada 2 horas
HSD Tukey^a

Formulaciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
4	6	1,9000			
3	6		2,1417		
2	6		2,2385		
5	6			2,5633	
1	6				3,0717
Sig.		1,000	,215	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

En la tabla 26 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%. Los tratamientos se dividieron en 4 subconjuntos, existiendo una diferencia significativa entre la crema base y la mezcla. La formulación control, con *Diospyros kaki* Thumb no presentan diferencias, es decir, tiene efecto cicatrizante comparado con la crema cicatricure. Ver figura 5.

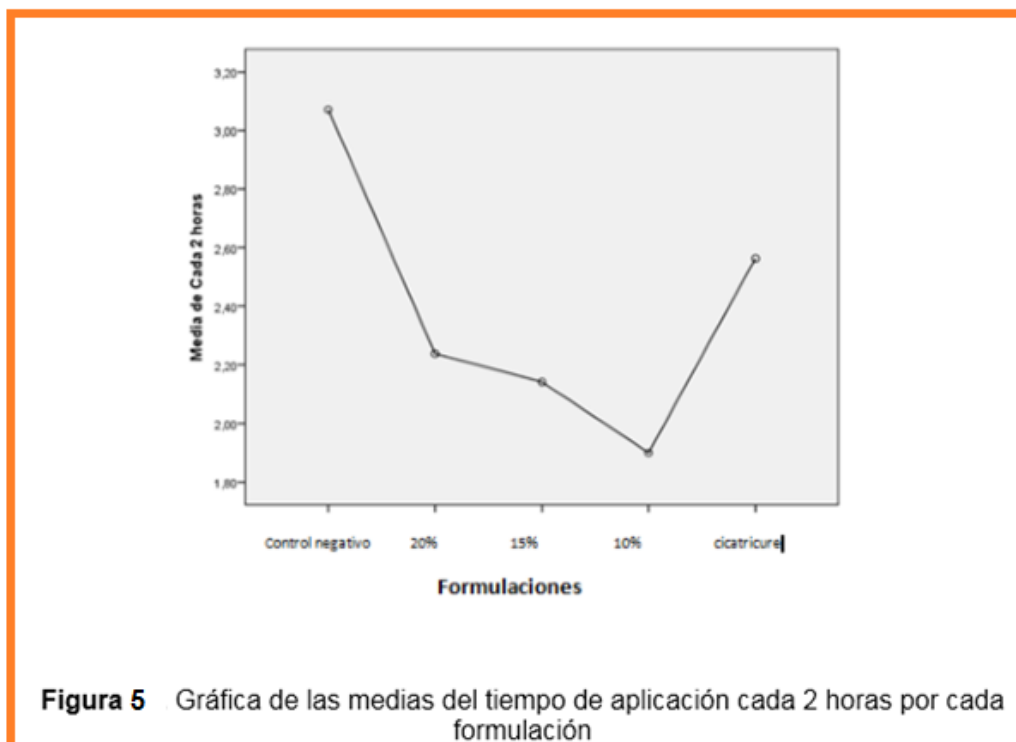


Tabla 27. Prueba de Turkey para determinar el Tiempo de aplicación cada 4 horas

HSD Tukey^a

Formulaciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
4	6	2,3373	
3	6	2,4167	
2	6	2,5800	
1	6		3,3300
5	6		3,6800
Sig.		,576	,230

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

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

En la tabla 27 se muestran los resultados obtenidos en el test de Tuckey con un nivel de confianza del 95%. Los tratamientos se dividieron en 2 subconjuntos. No presentan diferencias, es decir, son homogénea las formulaciones de la mezcla. La formulación control Negativo y crema base de *Diospyros kaki* Thumb 20% son homogénea también. Ver figura 6.

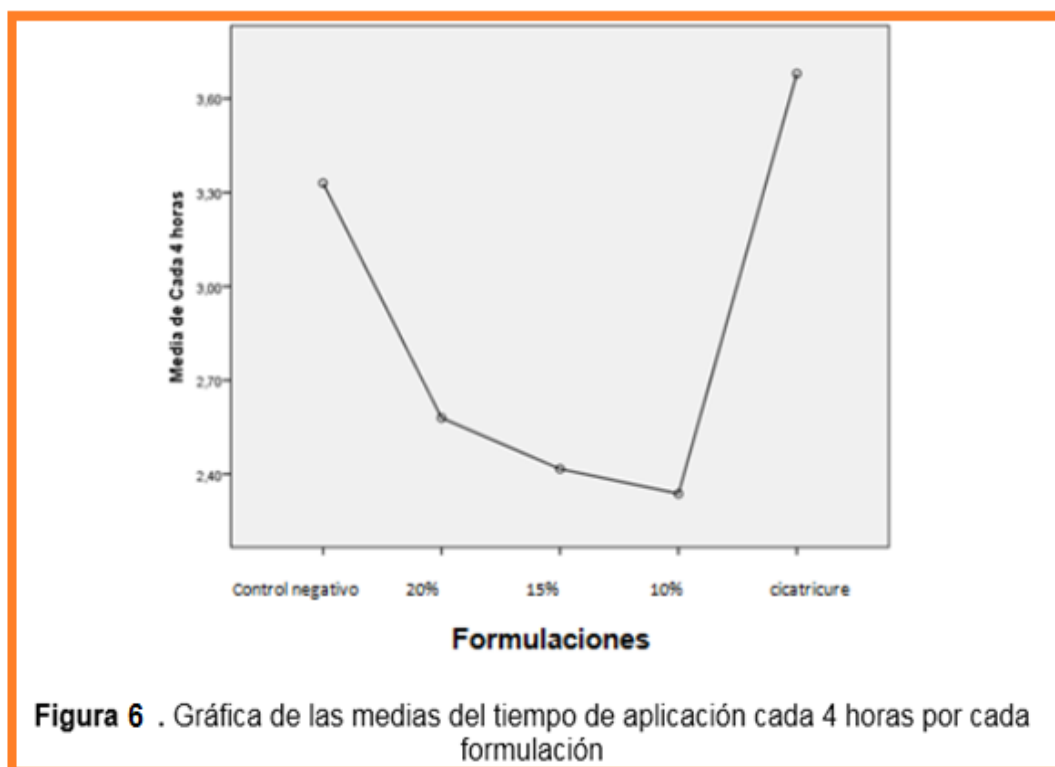


Tabla 28. Prueba de Turkey para determinar el Tiempo de aplicación cada 12 horas HSD Tukey^a

Formulaciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
4	6	2,2600		
3	6	2,4233		
1	6		3,0700	
2	6		3,1950	3,1950
5	6			3,6117
Sig.		,882	,952	,156

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

En la tabla 28 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%. Los tratamientos se dividieron en 3 subconjuntos. Las

formulaciones de la *Diospyros kaki* Thumb al 20% y *Diospyros kaki* Thumb al 15% y presentan diferencias, es decir, no son homogéneas. La formulación control negativo y cremas cicatricure no son homogéneas también. La formulación de *Diospyros kaki* Thumb están en ambos grupos, es decir, son estadísticamente significativas. Ver figura 7.

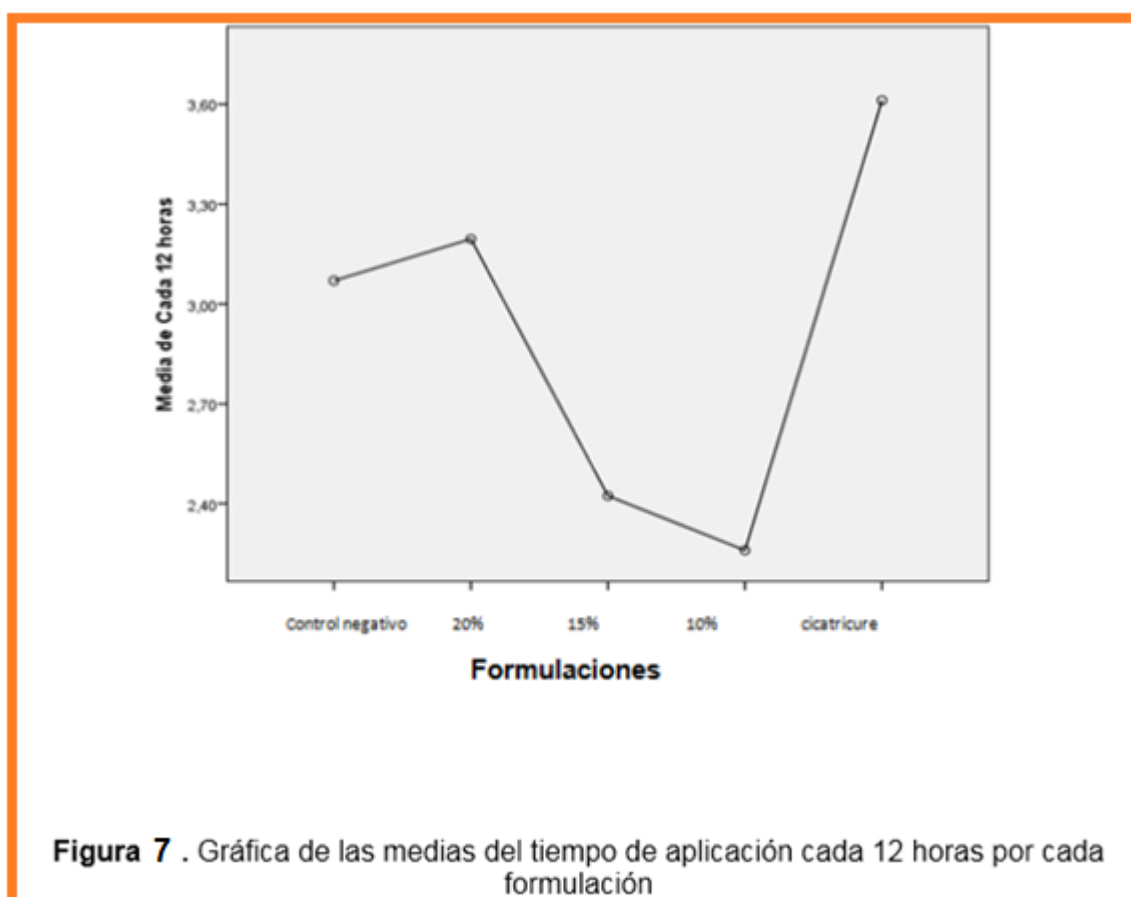


Tabla 29. Prueba de Turkey para determinar el Tiempo de aplicación cada 24 horas

HSD Tukey ^a		Subconjunto para alfa = 0.05		
Formulaciones	N	1	2	3
3	6	2,4433		
4	6	2,6000		
1	6		3,2117	
2	6		3,3517	
5	6			3,8583
Sig.		,706	,782	1,000

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

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

En la tabla 29 se muestran los resultados obtenidos en el test de Tuckey con un nivel de confianza del 95%. Los tratamientos se dividieron en 3 subconjuntos. Las formulaciones de *Diospyros kaki* Thumb 20%, *Diospyros kaki* Thumb 15 % y *Diospyros kaki* Thumb 10% presentan diferencias, es decir, no son homogéneas. La formulación de y crema control negativo no son homogéneas también. La crema cicatricure posee una media significativamente mayor que las formulaciones y mezcla. Ver figura 8.

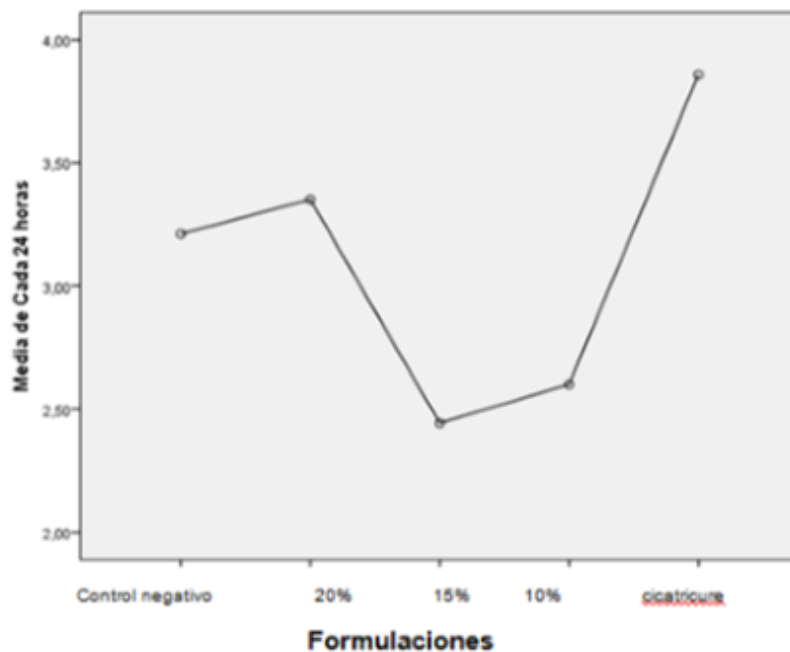


Figura 8 . Gráfica de las medias del tiempo de aplicación cada 24 horas por cada formulación

4.2.3 Contrastación de Hipótesis Específica 3

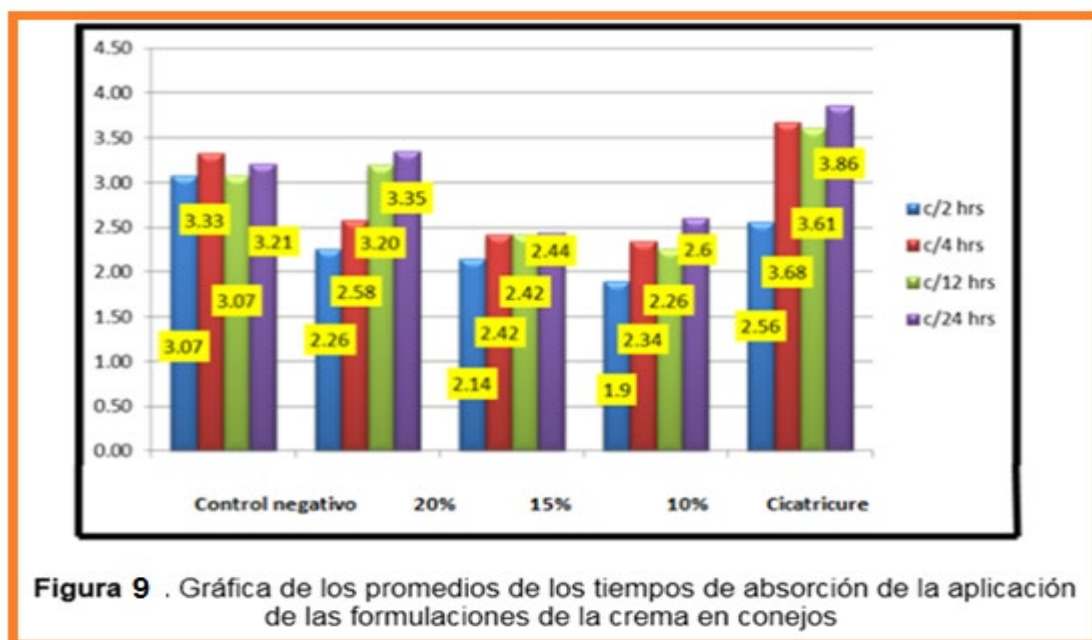
La hipótesis específica 3 corresponde a:

“Los tiempos de cicatrización de la crema a base del extracto de *Diospyros kaki* Thumb y una mezcla de ambas influyen directamente en el efecto cicatrizante en la incisión sobre la piel de conejos *New Zealand*”.

A fin de poder realizar la docimasia de esta hipótesis, se realizó el ritual de significancia estadística, para lo cual se realizó promedio de los tiempos de absorción de las aplicaciones de las formulaciones en los conejos. Ver tabla 30.

Tabla 30. Promedio de los tiempos de absorción de la aplicación de las formulaciones de la crema en conejos. Ver figura 9.

Formul_crem	c/2 hrs	c/4 hrs	c/12 hrs	c/24 hrs
C. Negativo	3.07	3.33	3.07	3.21
C. 20 %	2.26	2.58	3.20	3.35
C.15 %	2.14	2.42	2.42	2.44
C.10%	1.9	2.34	2.26	2.6
Cicatricure	2.56	3.68	3.61	3.86



En la figura 9, se muestra que la formulación de 15% y 10% tuvieron los tiempos de cicatrización mucho menores a las otras formulaciones, donde la aplicación cada 2 horas para el control positivo dio el menor tiempo que fue de 1.90 min.

4.2.4 Contratación de Hipótesis Específica 4

La hipótesis específica 4 corresponde a:

“La crema a base del extracto de *Dyospiros kaki* Thumb, posee efecto cicatrizante comparado con Cicatricure, en incisión sobre la piel de conejos New Zealand”.

A fin de poder realizar la docimasia de esta hipótesis, se realizó la evaluación de significancia estadística, para lo cual se sugirió una secuencia ordenada de pasos:

I.- Formulación de Hipótesis Estadística

H₀: *El efecto de las formulaciones es igual entre todas las aplicaciones evaluadas.*

H₁: *El efecto de las formulaciones es diferente entre todas las aplicaciones evaluadas.*

II.- Establecer el Nivel de Significancia

Para la presente investigación se decidió trabajar con un nivel de confianza del 95%, correspondiente a un nivel de significancia (α) de 5% = 0.05.

III.- Determinación del Estadígrafo a Emplear

Al tratarse de una variable cualitativa y otra cuantitativa se planteó seguir la vía de los análisis bivariados, así también se identificó que la variable de agrupación determina siete categorías, con lo que se estableció la necesidad de utilizar estadígrafos para más de dos muestras independientes. A fin de poder identificar el estadígrafo idóneo para el análisis, se deberá cumplir con los siguientes supuestos:

• Determinación de la Distribución Normal de los Datos

Para esto se ejecutó de la prueba Shapiro-Wilk, al tratarse de un tamaño muestral inferior a 30 unidades muestrales, trabajándose bajo las siguientes hipótesis de prueba:

H₀: *El efecto de las formulaciones es igual entre todas las aplicaciones evaluadas sigue una distribución normal.*

H₁: *El efecto de las formulaciones es diferente entre todas las aplicaciones evaluadas no sigue una distribución normal.*

		Shapiro-Wilk		
Formulaciones		Estadístico	gl	Sig.
Cada 2 horas	1	,965	6	,854
	2	,671	6	,003
	3	,989	6	,987
	4	,898	6	,362
	5	,988	6	,983
Cada 4 horas	1	,721	6	,010
	2	,924	6	,535
	3	,871	6	,231
	4	,789	6	,047
	5	,919	6	,497
Cada 12 horas	1	,969	6	,885
	2	,834	6	,116
	3	,891	6	,324
	4	,933	6	,607
	5	,943	6	,686
Cada 24 horas	1	,929	6	,574
	2	,944	6	,694
	3	,915	6	,468
	4	,938	6	,644
	5	,935	6	,617

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Al encontrarse resultados con un P-Valor menor a 0.05, se rechazó la hipótesis nula, por lo que declararemos que se ha establecido la distribución no normal de los datos, lo que sustenta la certeza del uso de una prueba no paramétrica.

IV.- Estimación del P-Valor

Se llevó a cabo la ejecución de la prueba H de Kruskal-Wallis, a fin de poner a prueba la hipótesis específica planteada. Ver tabla 31 y figuras 10 y 11.

Tabla 31. Distribución de los efectos de las formulaciones según tiempo de aplicación en conejos.

	Formulaciones	N	Rango promedio
Cada 2 horas	1	6	27,50
	2	6	15,50
	3	6	9,50
	4	6	3,50
	5	6	21,50
	Total	30	
Cada 4 horas	1	6	22,67
	2	6	11,08
	3	6	10,08
	4	6	7,58
	5	6	26,08
	Total	30	
Cada 12 horas	1	6	18,50
	2	6	20,17
	3	6	8,17
	4	6	5,17
	5	6	25,50
	Total	30	
Cada 24 horas	1	6	17,50
	2	6	19,42
	3	6	4,67
	4	6	8,83
	5	6	27,08
	Total	30	

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

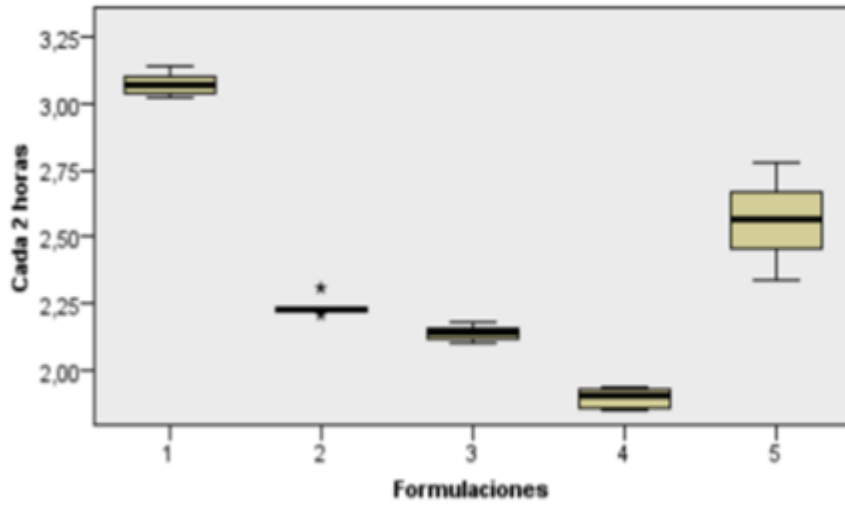


Figura 10. Gráfico de caja y bigotes de las formulaciones según la aplicación cada 2 horas en conejos

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

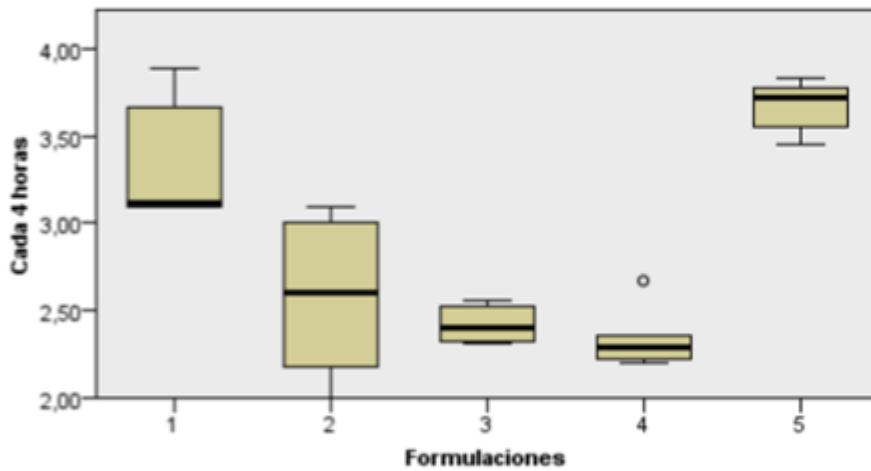


Figura 11. Gráfico de caja y bigotes de las formulaciones según la aplicación cada 4 horas en conejos

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

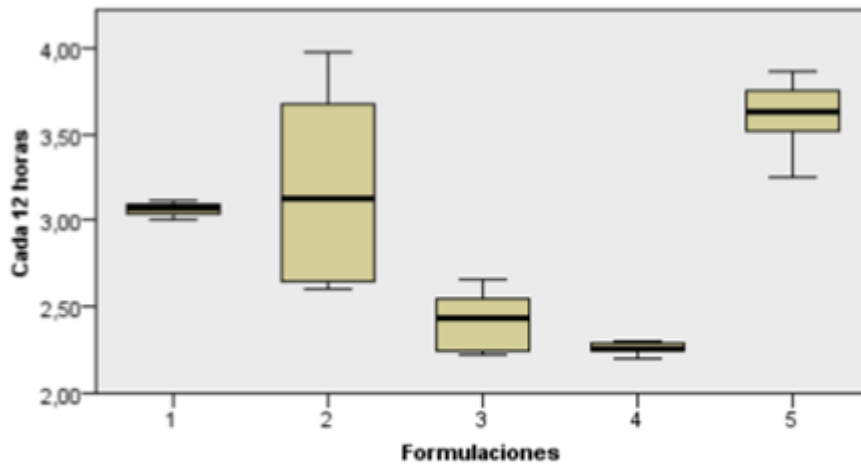


Figura 12. Gráfico de caja y bigotes de las formulaciones según la aplicación cada 12 horas en conejos

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

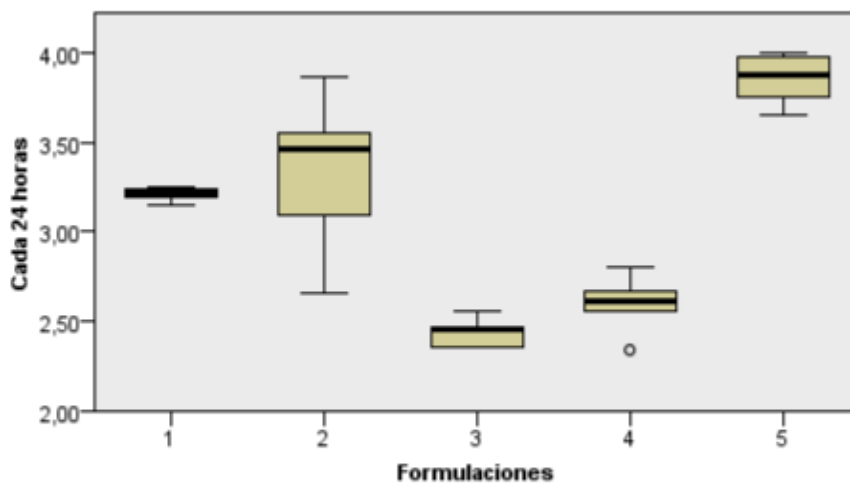


Figura 13. Gráfico de caja y bigotes de las formulaciones según la aplicación cada 24 horas en conejos

V.-Toma de Decisión

Al encontrarse un P-Valor menor a 0.05, se rechazó la hipótesis nula, por lo que declararemos que se ha establecido la dependencia de las variables; es decir, que el efecto de las formulaciones varía significativamente, donde el mayor efecto alcanzado fue con crema Cicatricure mientras que el mínimo efecto global fue con el control Negativo, de esta manera el extracto *Diospyros kaki* Thumb 20%, posee efecto cicatrizante comparado con crema Cicatricure.

4.3 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Rojas, M.⁹ en su investigación: Elaboración de una crema hidratante a base de pepino "Cucumis sativus" y caqui "Equisetum arvense" y el estudio de su eficacia. El Tamizaje Fitoquímico permitió comprobar la existencia de los principales metabolitos de la cola de caballo, ácidos esenciales, antocianinas, mucilagos, polisacáridos y flavonoides. La crema seleccionada que correspondió al tratamiento 4, es de buena calidad tiene compatibilidad con los principios activos y con sus excipientes, cuya fórmula es: lanolina 9.90%, ácido esteárico 10.17 %, alcohol cetílico 5.0%, glicerina 9.10%, trietanolamina 8.30% vaselina líquida 4.11%, mentol 1.2%, propilglicol 1.0% y partes vegetales con 51.20%, resultado idóneo para la elaboración de la crema. En el análisis clínico al aplicar la formulación de la crema mediante el extracto obtenido por infusión, 3 veces diarias durante 10 días observó excelentes resultados especialmente para las rodillas y codos, ya que estos permanecían cicatrizados e hidratados hasta 12 horas en las cuales mantenían la piel fresca y con brillo.

La crema a base de *Diospyros kaki* Thumb, de acuerdo con los ensayos efectuados y la hipótesis propuesta, comprobó los principales metabolitos de la *Diospyros kaki* Thumb, que fue similares a la de la investigación con la diferencia que se encontró mínimo porcentaje en Antraquinonas y Flavonoides. Se realizó la formulación de la crema con cantidades similares de componentes y la aplicación a los conejos en distintos intervalos de tiempo. La diferencia de la tesis con la presente investigación es el tratamiento debido a que la aplicación fue cada 12

horas y cada 4 horas respectivamente, esto se da debido a que el tiempo de cicatrización fue menor a comparación con las otras aplicaciones.

Cevallos, M. V. ¹⁰ en su tesis: Elaboración y control de calidad de una crema cicatrizante a base de mucilagos y aromas naturales. La crema se obtuvo por mezcla de Ácido esteárico, agua destilada, 0,2% de extractos de pera y jacaranda. Determinó que después de la hora su absorción es completa, la mejor formulación fue con extracto de pera teniendo un valor promedio de absorción de 1.99 resultando ser menor a las otras formulaciones incluyendo la formulación control.

La crema a base de ***Diospyros kaki*** Thumb de acuerdo a los ensayos efectuados y la hipótesis propuesta, comprobó que la formulación adecuada crema ***Diospyros kaki*** Thumb con 20% de concentración de los extractos. A diferencia de la presente investigación que realizan con menor concentración. El valor promedio fue de 1.90 similar a la investigación, indicando que el extracto potencializa su efecto.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados se llegó a las siguientes conclusiones:

El tamizaje fitoquímico de los extractos de *Diospyros kaki* Thumb, demostró la presencia de varios metabolitos secundarios en los que se encuentran: antocianinas, mucílagos, polisacáridos y flavonoides. A la vez, se realizó la formulación y elaboración de las cremas hidratantes, utilizando los extractos de la fruta, determinando que la formulación con tiempo de absorción menor es la formulación de la mezcla de los extractos con la crema base: *Diospyros kaki* Thumb. La preparación consto de dos fases; una fase oleosa y la otra acuosa, en la fase Oleosa (Vaselina liquida, Vaselina sólida, Alcohol cetosterealíco y Galenol) y para la fase Acuosa (Alcohol bencílico, Glicerina y agua).

1. Se evaluó los tiempos de aplicación de la crema a base del extracto de *Diospyros kaki* Thumb, sobre la incisión en la piel de conejos *New Zealand* a las 2, 4, 12 y 24 horas de experimentación; probándose que la aplicación de la crema cada 2 y 4 horas tuvieron mejores resultados.
2. El promedio estadístico de los tiempos de absorción de la aplicación en la incisión de la piel de conejos *New Zealand*. Se demostró el efecto cicatrizante de la crema a base de los extractos *Diospyros kaki* Thumb al 20% de la mezcla de un valor de 1.9.
3. La prueba de Kruskal Walls da un valor de 3.5 en la absorbilidad demostrando que es un valor menor, determinando que la crema de la *Diospyros kaki* Thumb al 20% actúa mejor que el control positivo Cicatricure, sobre la incisión en la piel de conejos *New Zealand*.

5.2 RECOMENDACIONES

Como resultado del presente trabajo de investigación se aportan las siguientes recomendaciones:

1. Se recomienda realizar un control de calidad a las formulaciones de las cremas cicatrizantes elaboradas para determinar su posible comercialización.
2. Se recomienda realizar estudios de la estabilidad de las cremas cicatrizantes para determinar su caducidad y las condiciones aptas para su posible aplicación en seres humanos.
3. Se sugiere incorporar una mayor cantidad de los extractos ya que potenciará el efecto dándole la actividad de cicatrizante y antiinflamatoria en el caso de ***Diospyros kaki*** Thumb debido a los flavonoides y antraquinonas y por su alto contenido de vitaminas.
4. Se sugiere que se continúe con su estudio para obtener un mejor producto y se desarrolle una fórmula más apropiada para su producción industrial.

Bibliografía

1. Mancebo Dorvigny B, Sánchez Perera LM, Díaz Aguirre S, Bulnes Goucohea C, Regalado AI, Escobar Medina A, et al. Efecto cicatrizante de la pasta de clorofila-caroteno de *Pinus caribaea* var. *caribaea* sobre heridas abiertas asépticas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2011; 16:24-33.
2. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *The Journal of international medical research*. 2009;37(5):1528-42.
3. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Perspective Article: Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*. 2008;16(5):585-601.
4. Basto CV. Cicatrize: Proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas. *Investigaciones Andinas*. 2009;12(2010):100.
5. Thakur R, Jain N, Pathak R, Sandhu SS. Practices in Wound Healing Studies of Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011; 2011:17.
6. Malaguti M, Dinelli G, Leoncini E, Bregola V, Bosi S, Cicero A, et al. Bioactive Peptides in Cereals and Legumes: Agronomical, Biochemical and Clinical Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*. 2014;15(11):21120.
7. A.Vogel© [Internet]. España: Enciclopedia de las plantas; c2015-2017 [consultado 18 de setiembre de 2017]. Disponible en: <https://www.avogel.es/enciclopedia-de-plantas/equisetum-arvense.php>
8. Revista: Asociación Chilena de Seguridad (ACHS) Disponible en: www.hospitaldeltrabajador.cl/ht/Comunidad/Noticias/Paginas/Como-superar-el-trauma-a-traves-de-terapias-complementarias.aspx
9. Revista: PERURetail Disponible en: <https://www.peru-retail.com/digemid-cede-control-del-mercado-cosmeticos-a-digesa/>
10. Revista Acofar. [Internet]; c1997-2017. Disponible en: <http://www.revistaacofar.com/revista/secciones/dermofarmacia/713-causas-de-ladeshidratacion-cutanea.html>
11. Cabieses, Fernando 2007 "La salud y los dioses. La medicina en el antiguo Perú". Lima: Universidad Científica del Sur.

12. Cáceres, Armando. Plantas de uso medicinal en Guatemala Volumen I. 1ª. Edición Guatemala: Editorial universitaria de San Carlos, Pp. 5-7,1996.
13. Yaringaño M. Formulación de una crema a base de *Mauritia flexuosa* L, f. y *Copaifera reticulata* var. *Peruaviana* con efecto regenerador de la piel lesionada en ratones *Mus musculus* Balb. C [tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
14. Guevara Catilla, MI. Determinación de la actividad regeneradora en eritema solar de un gel cosmético a base del extracto de diclorometano de flores de *Iresine weberbaueri* (flor blanca). [Tesis para optar al Grado Académico de Magíster en Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2011
15. Huari Mejía EA y De la Cruz Durand LA. Efecto terapéutico del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. “chupasangre”, en forma de crema farmacéutica. [Tesis para obtener Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
16. Cobos Yañez, DB. Elaboración de una crema nutritiva facial a base de la pulpa de Chirimoya (*Annona cherimola*, Annonaceae). [Tesis para obtención del título de magíster en Ciencias y Tecnologías Cosméticas]. Quito: Universidad Politécnica Salesiana; 2015.
17. Rojas Saraguro, MC. Elaboración de una crema hidratante a base de pepino “*Cucumis sativus*” y cola de caballo “*Equisetum arvense*” y el estudio de su eficacia. [Tesis para la obtención del título de Bioquímica Farmacéutica]. Ecuador: Universidad Técnica de Machala; 2014.
18. Villacís Vargas C. Elaboración y comprobación de la eficacia in vivo de crema humectante con extracto de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Solanáceae) y arazá (*Eugenia stipitata*, Myrtáceae). [Tesis Magíster]. Quito: Universidad Politécnica Salesiana, 2014.
19. Cevallos Medina MV. Elaboración y control de calidad de una crema corporal hidratante a base de mucilagos y aromas naturales. [Tesis de grado para el título de Bioquímico Farmacéutico]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2013.
20. Proaño Escudero, J. P. Efecto cicatrizante de crema a base de extractos hidroalcohólicos de Romero (*Rosmarinus officinalis*), Matico (*Piperaduncum*) y

- Cola de caballo (*Equisetum arvense*) en ratones (*Mus musculus*). [Tesis de grado de Bioquímico Farmacéutico]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2013.
21. Muñoz F. Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado. 4º edición. Ediciones Mundiprensa. 2002.
 22. Roldan A. Las 40 plantas medicinales más populares: una guía práctica y completa de sus virtudes terapéuticas y recetario. Editorial: Edaf. España. 2004.
 23. Lázaro e Ibiza B. Plantas medicinales. España: Editorial Maxtor; 2008.
 24. Revista Jardín Botánico de la Universidad de Málaga. [Internet]; c1997-2017. Disponible en: <http://www.jardinbotanico.uma.es/bbdd/index.php/diospyros-kaki/>
 25. Revista Estudiantil AGRO-VET. Vol.1 N° 1. Junio – Diciembre. 2017:16-19. Magaly Condori Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/reav/v1n1/v1n1_a04.pdf
 26. Revista Ecured. Combinaciones para este basónimo de Diospyros kaki. Consultado 12 de septiembre de 2012. Disponible en: <https://www.ecured.cu/Caqui>
 27. A.Vogel© [Internet]. España: Enciclopedia de las plantas; c2015-2017 [consultado 18 de setiembre de 2017]. Disponible en: <https://www.avogel.es/enciclopedia-de-plantas/equisetum-arvense.php>
 28. José María Vega P., Miguel de la Rosa A., Isabel García S. ANALISIS DEL VALOR NUTRITIVO E INTERES INDUSTRIAL DEL KAKI (VAR. TRIUMPH) ALIMENTO DEL SIGLO XXI Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis. Centro de Investigaciones Científicas Isla de la Cartuja. Avda. Américo Vespucio s/n. 41092 SEVILLA .2009
 29. <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/tecnofarma/wpcontent/uploads/2013/02/Extracci%C3%B3n.pdf> y <https://es.slideshare.net/Rennie533/extraccin-de-principios-activos-de-planta>
 30. Shelles Flores, Farmacia galénica. Madrid, Selsa, 1992.
 31. Revista: Liferder, Ivana Raschia [Internet]; 2018. Disponible en: <https://www.liferder.com/propiedades-kaki/>
 32. Revista: Frutas & Hortalizas, Anuario FAO de Comercio, 2000. Disponible en: <https://www.frutas-hortalizas.com/Frutas/Efectos-saludables-Kaki.html>

33. Miranda M, Cuellar A. Mención en Productos Naturales y Terapéuticos. Maestría en Farmacia y Bioquímica. Escuela de Postgrado. Universidad Nacional de Trujillo. Cuba, 2003. p. 3-5. 16.
34. Muñoz MJ. Hidratación cutánea. Ámbito farmacéutico. Dermofarmacia. Offarm. Vol. 27 núm. 11 diciembre 2008.
35. La enciclopedia médica A.D.A.M. MedlinePlus ,**Biblioteca Nacional de Medicina de los EE. UU.** 3 mayo 2018. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/scars.html>
36. Martini C. Materias primas utilizadas en la formulación cosmética de productos tópicos cutáneos. Introducción a la Dermofarmacia y a la Cosmetología. Acribia S.A., Zaragoza-España; 2005.
37. V. Lucha Fernández, V. Muñoz Mañez y B. Fornes Pujalte. Enfermeros Servicio de Dermatología-CHGUV. M. Garcia Garcerá. Biologo Servicio de Dermatología-CHGUV. (Consortio Hospital General Universitario de Valencia). Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4606613>
38. Moura E. Cremas Corporales, Cali- Colombia., Esculen., 2013., Pp. 8
39. Avon© [Internet]. Colombia: Belleza por un propósito; c2015 [consultado el 12 de agosto de 2017]. Disponible en: <http://bellezaporunproposito.co/la-historia-de-las-cremas-humectantes-e-hidratantes/>
40. Aliaga, A., Revista Informativa., Cremas hidratantes., Bogotá – Colombia., ABC Salud., 2012., Pp. 4
41. Aulton M. Farmacia: la ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. 2da ed. Madrid. S.A. Elsevier; 2004.
42. Dikes y Amererally. Lo esencial en Anatomía., 2da ed., Madrid-España Elsevier., 2005., p.7.
43. Benítez K. Pruebas con animales. 4ª Ed. Cien Fuegos. Cuba. Natural. 2009., Pp. 23- 45
44. Formulaciones Galénicas. (2005). Eucerin.
45. Moore R. J. & Wilkinson J. B. Cosmetología de Harry. Madrid: Días de Santos, S.A. (1990).
46. Ecocert. Cosméticos Naturales y Ecológicos. El Organismo de Certificación para el desarrollo Sostenible. Francia: 1 de julio del 2012.
47. The green corner. [Internet]. 2009. Programa Nacional Orgánico.

48. Tyler B. Farmacognosia. 2ªed. El Ateneo. Buenos Aire Argentina. 1979. p.1-30.
49. Llorens, C. Revista de salud., Crema corporal., Bogotá – Colombia., Belleza Innata., 2011., Pp. 3-8
50. Climoc, A. Elaboración de fórmulas magistrales, preparados oficinales, dietéticos y cosméticos. Cep. Barcelona – España. 2011. Pp: 112- 128.
51. Cadena, M. d. (2013, mayo 15). Procedimiento de la formulación de la crema. (S. Tello, Interviewer).
52. Domínguez A., Método de identificación fitoquímica. 1ra. Ed. México., Linusa. 2004. Pp 81 – 86.
53. Lock de Ugaz, O. Investigación fitoquímica. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. 1988. p.14-15.
54. Hernández Sampieri (2000)
55. Tamayo y Tamayo M. El proceso de la investigación científica. 3a edición. México, Limusa, 1994.
56. Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, Nueva York.

ANEXOS:

ANEXO 1. Fotos descriptivas de experimentación y trabajo de campo

1.1 Extracción Acuosa del fruto de “*Diospyros kaki* Thumb”



FOTO 6



FOTO 7

2.- Filtrado del Extracto Acuoso del “*Diospyros kaki* Thumb”



FOTO 8



FOTO 9



FOTO 10



FOTO 11



FOTO 12



FOTO 13

3.- Screening Fitoquímico del “*Diospyros kaki* Thumb”

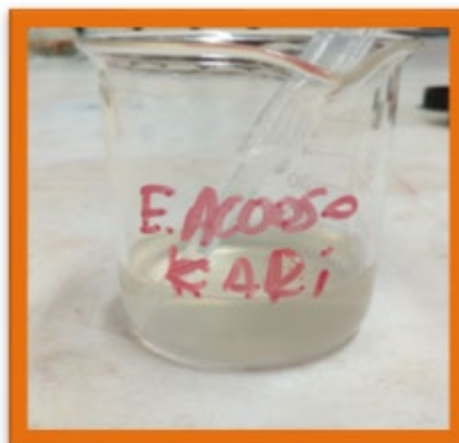


FOTO 14



FOTO 15



FOTO 16



FOTO 17



FOTO 18

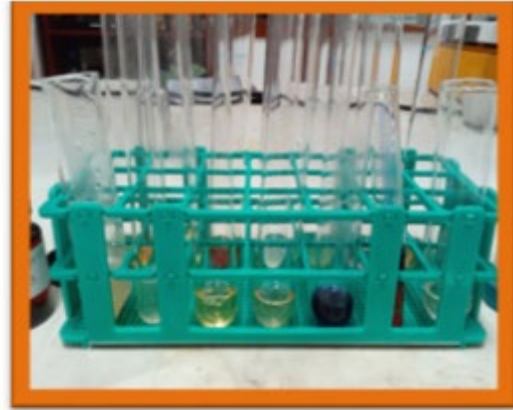


FOTO 19



FOTO 20



FOTO 21

4.- Prueba de Solubilidad

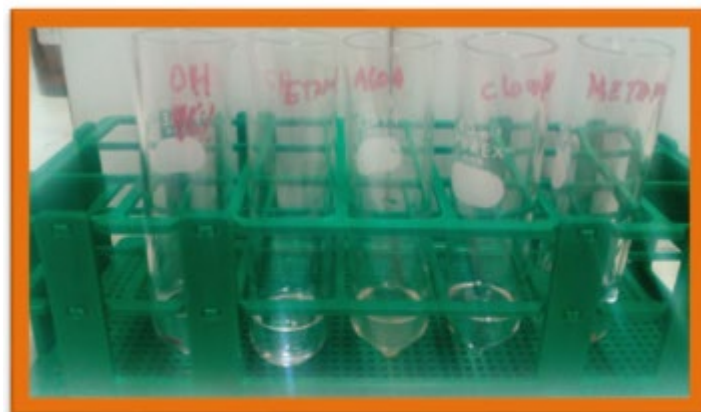


FOTO 22

5.- Prueba de Cromatografía en Capa Fina “Alcaloides”



FOTO 23



FOTO 24



FOTO 25

6.- Prueba de Cromatografía en Capa Fina “Flavonoides”



FOTO 26

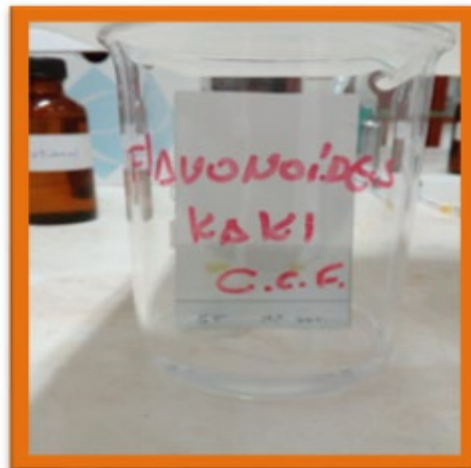


FOTO 27

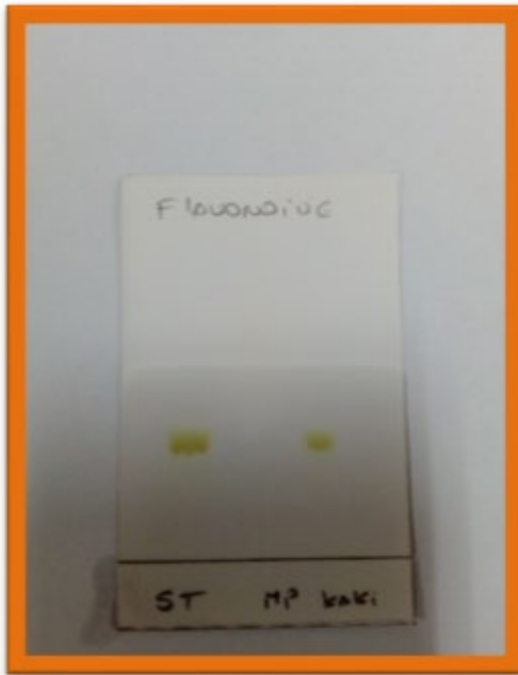


FOTO 28



FOTO 29

7.- Prueba de Flavonoides Totales por el Espectrofotométrico UV vis



FOTO 30



FOTO 31



FOTO 32

8.- Liofilizado del Extracto Acuoso de "*Diospyros kaki*" y Elaboración de la Crema.



FOTO 33



FOTO 34



FOTO 35

9.- Ingreso al Bioterio



FOTO 36

10.- Conejos machos albinos, cepa New Zeland.



FOTO 37



FOTO 38



FOTO 39

11.- Crema depiladora



FOTO 40

12.- Alimento balanceado y viruta para el mantenimiento de los animales



FOTO 41

13.- Anestésicos usados para la sedación



FOTO 42

14.- Depilación con crema depilatoria, 24 horas antes del ensayo



FOTO 43

15.- Conejo depilado antes del ensayo



FOTO 44



FOTO 45

16.- Conejos sedados antes del inicio del corte del ensayo



FOTO 46

17.- Zona dorsal para iniciar la incisión



FOTO 47



FOTO 48

18.- Delimitación de la zona para generar la herida



FOTO 49



FOTO 50

19.- Hoja de bisturí con el cual se realiza la incisión



FOTO 51

20.- Procedimiento del corte



FOTO 52



FOTO 53



FOTO 54

21.- Cremas usadas durante el ensayo



FOTO 55

22.- Aplicación de la muestra



FOTO 56



FOTO 57

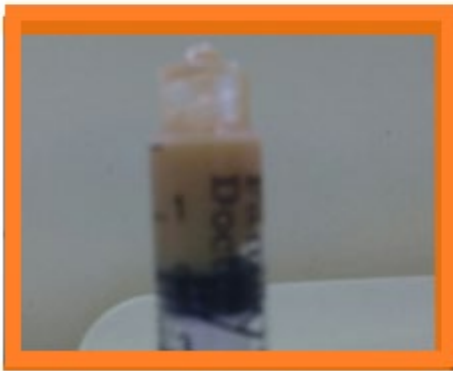


FOTO 58



FOTO 59

23.- Evaluacion del Control Negativo: 0 Dias

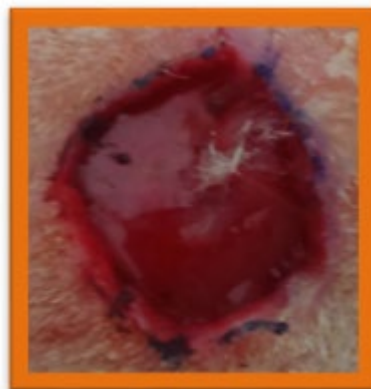


FOTO 60

24.- Control negativo: Evaluación a los 7 días



FOTO 61

25.- Control negativo: Evaluación a los 14 días



FOTO 62

26.- Control negativo: Evaluación a los 21 días

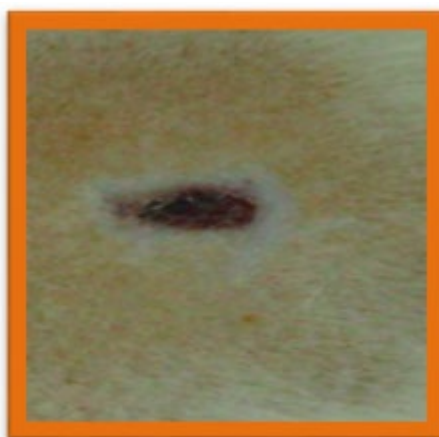


FOTO 63

27.- Evaluación del Control Positivo: 0 días



FOTO 64

28.- Evaluación del Control Positivo: 7 días



FOTO 65

29.- Evaluación del Control Positivo: 14 Días



FOTO 66

30.- Evaluación del Control Positivo: 21 días

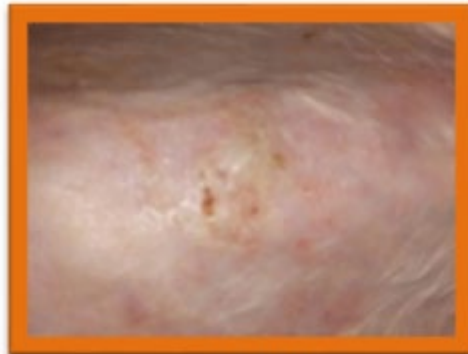


FOTO 67

31.- Evaluación de la Muestra al 20%: 0 Días



FOTO 68

32.- Evaluación de la Muestra al 20%: 7 Días



FOTO 69

33.- Evaluación de la Muestra al 20%: 14 Días

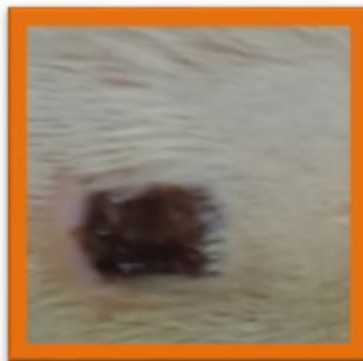


FOTO 70

34.- Evaluación de la Muestra al 20%: 21 Días



FOTO 71

35.- Evaluación de la Muestra al 15%: 0 Dias



FOTO 72

36.- Evaluación de la Muestra al 15%: 7 Días



FOTO 73

37.- Evaluación de la Muestra al 15%: 14 Días



FOTO 74

38.- Evaluación de la Muestra al 15%: 21 Días



FOTO 75

39.- Evaluación de la Muestra al 10%: 0 Días



FOTO 76

40.- Evaluación de la Muestra al 10%:7 Días



FOTO 77

41.- Evaluación de la Muestra al 10%: 14 Días



FOTO 78

42.- Evaluación de la Muestra al 10%: 21 Días

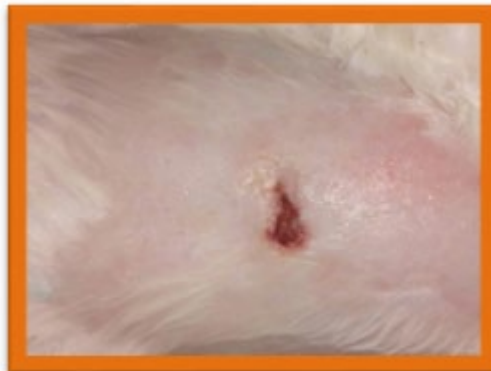


FOTO 79

43.- Evaluación de la Muestra al 5%: 0 Días



FOTO 80

44.- Evaluación de la Muestra al 5%: 7 Días



FOTO 81

45.- Evaluación de la Muestra al 5%: 14 Días



FOTO 82

46.- Evaluación de la Muestra al 5%: 21 Días

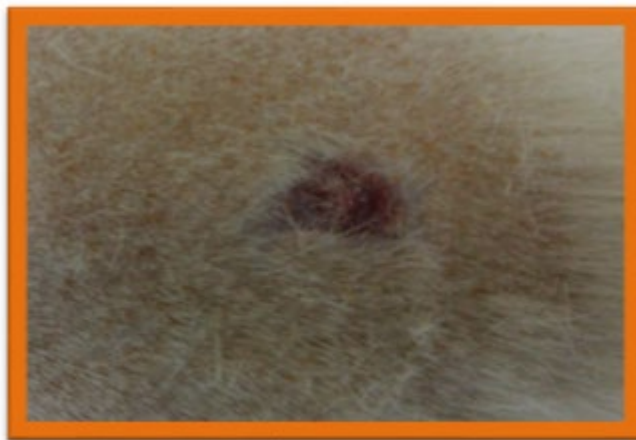


FOTO 83

Anexo 2: Ficha de evaluación de cicatrización de piel de conejo

ITEM	FECHA	CICATRICURE	OBSERVACIÓN

ITEM	FECHA	CREMA EN BASE A EXTRACTO DE <i>Diospyros kaki</i> Thumb 10%	OBSERVACIÓN

ITEM	FECHA	CREMA EN BASE A EXTRACTO DE <i>Diospyros kaki</i> Thumb 15%	OBSERVACIÓN

ITEM	FECHA	CREMA EN BASE A EXTRACTO DE <i>Diospyros kaki</i> Thumb 20%	OBSERVACIÓN



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CERTIFICADO

Lima, 22 de Agosto del 2018

Mediante la presente se certifica que los 30 conejos albinos (*Oryctolagus cuniculus*) de la cepa New Zealand, machos con un promedio de peso de 2.20 Kg, adquiridos el 22 de agosto del 2018, se encuentran en estado sanitario y fisiológico para ser utilizado en cualquier protocolo biomédico.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,



Dr. CHRISTIAN PITOT ALVAREZ
Jefe de Boterío
LID - UPCH
C.M. V. 8885



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Servicio de Control de Calidad

Lima, 10 de Septiembre del 2018

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad
Inca

Garcilaso de la Vega.

S.D.

Mediante la presente se pone en conocimiento lo siguiente:

La Bachiller Srta. Rivera Escobar, Dessiree y Medina Mamani, Melissa, egresadas de la facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la prestigiosa Universidad Inca Garcilaso de la Vega; están haciendo su tesis de Investigación en "Toxicidad aguda y su actividad cicatrizante del extracto acuoso del fruto de *Diospyros Kaki* en conejos" en los laboratorios del

Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,

Q.F. ERIK OLIVAR GALLEGOS

Coordinador de Aseguramiento de la Calidad



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 167-USM-2017

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 (frutos), recibida de **Melissa MEDINA MAMANI y Dessiree RIVERA ESCOBAR**, estudiantes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Universidad Inca Garcilaso de la Vega,; ha sido estudiada y clasificada como: ***Diospyros kaki*** Thumb., y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: EBENALES

FAMILIA: EBENACEAE

GENERO: *Diospyros*

ESPECIE: *Diospyros kaki* Thumb.,

Nombre vulgar: "Caqui".

Determinado por: Mg. Asunción Cano Echevarría

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

Lima, 16 de agosto de 2017



Mag. Asunción A. Cano Echevarría
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/odb

El presupuesto lo detallamos a continuación en la tabla 31.

Tabla 31: Presupuesto desarrollo de tesis- Elaboración de crema cicatrizante en base a *Diospyros kaki* Thumb

BIENES		
ITEM	DESCRIPCIÓN	VALOR (s/.)
1	Clasificación taxonómica de fruto-Museo de Historia Natural de la Universidad Mayor de San Marcos.	75.00
2	Compra de 35 conejos albinos New Zealand- Bioterio de Universidad Peruana Cayetano Heredia.	1750.00
SERVICIO A TERCEROS		
3	Alquiler de laboratorio del Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia- Bioterio, análisis.	2500.00
4	Pasajes	400.00
TOTAL		4445.00

Fuente: Propia