

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**“EFECTO CICATRIZANTE DE UN GEL A BASE DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE ORTIGA (*Urtica urens* L.) Y EXTRACTO
ETANÓLICO DEL MUCÍLAGO DE LA SÁBILA (*Aloe vera* (L) Burn.) EN
RATAS ALBINAS”**

Tesis para optar el Título Profesional de
QUÍMICO FARMACÉUTICO Y BIOQUÍMICO

TESISTAS:

BACH: CELESTINO MALLQUI, KERRY JHEFFNER

BACH: LÓPEZ PARRA, JULIO CONSTANTINO

ASESOR:

Dra. QF. HEDDY TERESA MORALES QUISPE

LIMA – PERÚ

2018

DEDICATORIAS

Este trabajo le dedico a Dios, por guiar mis pasos y protegerme cada etapa de mi vida, por mostrar su amor mostrando una naturaleza sabia, y lo podemos encontrar en las plantas.

A mi madre, por su apoyo inagotable su amor y cariño, a mi padre que me cuida desde el cielo, por sus consejos y sabias palabras que hoy me llenan de orgullo y fortaleza, a mis hermanas por su comprensión ya que tenerlos es una bendición.

Kerry Jheffner Celestino Mallqui

En especial a DIOS, por iluminar el sendero del triunfo, con sus bendiciones y darnos fortaleza, perseverancia y salud para cumplir el anhelo y meta trazada del trabajo de tesis.

A mi familia y en especial a mi hija Isabel, mi princesa del reino de mis sentimientos y vida, a mis padres que inculcaron valores de honestidad, solidaridad, responsabilidad y compromiso.

Julio López Parra

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por habernos aceptado, ser parte de ella y abrirnos la puerta del saber científico para poder desarrollar nuestras capacidades, conocimientos científicos y formarnos profesionalmente con valores para enfrentar nuevos retos, así mismo a todos nuestros docentes quienes formaron parte de nuestra vida estudiantil, por compartir sus conocimientos y experiencias.

A nuestro asesora de Tesis Dr. Q.F. Heddy Teresa Morales Quispe, por su dedicación, orientación y compromiso; por compartir su experiencia para desarrollar y culminar el presente trabajo.

Blgo. Julio Fernando Hidalgo Ascencios. Mg. Q.F. Carlos Cano Pérez. Por su gran apoyo, invalorable consejos y orientación.

A todos nuestros amigos, por su amistad y por acompañarnos durante toda la Carrera profesional, mil gracias.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice	
Índice de Tablas	
Índice de Figuras	
Índice de Anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2. Formulación del problema	3
1.3. Problema General	3
1.4. Problemas Específicos	4
1.5. Objetivos	4
1.5.1. Objetivo general	4
1.5.2. Objetivos específicos	4
1.6. Justificación de la Investigación	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	6
2.1. Antecedentes del Estudio	6
2.1.1. Antecedentes nacionales	6
2.1.2. Antecedentes internacionales	11
2.2. Bases legales	17
2.2.1. Normas nacionales	17
2.2.2. Normas extranjeras	17
2.3. Bases teóricas	18
2.3.1. Ortiga (<i>Urtica urens</i> L.)	18
2.3.1.1. Descripción General de la ortiga (<i>Urtica urens</i> L.)	18

2.3.1.2.	Usos y propiedades de la ortiga (<i>Urtica urens</i> L.)	18
2.3.1.3.	Distribución botánica de la ortiga (<i>Urtica urens</i> L.)	19
2.3.1.4.	Clasificación taxonómica de la ortiga (<i>Urtica urens</i> L.)	20
2.3.1.5.	Características botánicas de la Ortiga (<i>Urtica urens</i> L.).....	20
2.3.1.6.	Composición química (<i>Urtica urens</i> L.)	21
2.3.2.	Sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn)	22
2.3.2.1.	Descripción General de la sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn).....	22
2.3.2.2.	Distribución botánica de la sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn).....	24
2.3.2.3.	Identificación taxonómica de la sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn).....	26
2.3.2.4.	Características botánicas de la sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn).....	26
2.3.2.5.	Hoja de la sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn)	27
2.3.2.6.	Capa externa o corteza	27
2.3.2.7.	Capa fibrosa o tejido conductor	27
2.3.2.8.	Usos y propiedades de la sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn).....	28
2.3.2.9.	Composición química (<i>Aloe vera</i> L. Burn).....	29
2.3.3.	Metabolitos Secundarios con efectos cicatrizantes y antibacterianos	31
2.3.3.1.	Flavonoides	31
2.3.3.2.	Taninos	34
2.3.3.3.	Clasificación	35
2.3.3.4.	Alcaloides	37
2.3.3.5.	Antraquinonas	38
2.4.	Farmacología dermatológica	40
2.4.1.	La Piel	40
2.4.1.1.	Función de la piel	41

2.4.1.2.	Células de Langerhans	41
2.4.1.3.	Células de Merkel	41
2.4.1.4.	Dermis	42
2.4.1.5.	Dermis papilar	42
2.4.1.6.	Dermis reticular	42
2.5.	Herida	42
2.5.1.	Herida por incisión	43
2.6.	Cicatrización	44
2.6.1.	FASE I - Hemostasia	44
2.6.2.	FASE II - Inflamatoria	45
2.6.3.	FASE III - Proliferativa o de Granulación	46
2.6.4.	FASE IV - Epitelización	46
2.6.5.	FASE V - Remodelación o de Contracción	46
2.7.	Tipos de Cicatrizantes	47
2.8.	Lineamientos Generales para el Tratamiento por Vía Tópica	48
2.9.	Formulación del Gel para aplicación tópica con efecto cicatrizante	49
2.10.	Formulación de la hipótesis	51
2.10.1.	Hipótesis general	51
2.10.2.	Hipótesis Específicas	51
2.11.	Operacionalización de Variables e Indicadores	52
2.11.1.	Variables	52
2.11.2.	Dimensiones	52
2.11.3.	Indicadores	52
2.12.	Definición de términos básicos	53
 CAPÍTULO III: METODOLOGÍA		55
3.1.	Tipo y Nivel de Investigación	55
3.2.	Diseño de Investigación	55
3.3.	Población y Muestra	55
3.4.	Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	57
3.5.	Descripción de Instrumentos	57
3.6.	Validación de Instrumentos	58

3.7.	Técnicas de Procesamiento de Datos y Análisis Estadístico	58
3.8.	Diseño Experimental: Muestras, Materiales, Equipos y Reactivos..	58
3.8.1.	Muestra biológica	58
3.8.2.	Material de Vidrio y otros.....	59
3.8.3.	Equipos e Instrumentos	59
3.8.4.	Reactivos	60
3.9.	Procedimientos Experimentales	61
3.9.1.	Recolección	61
3.9.1.1.	Recolección de la ortiga (<i>Urtica urens</i> L.)	61
3.9.1.2.	Recolección de la sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn)	61
3.9.2.	Obtención del Extracto Etanólico.....	62
3.9.2.1.	Obtención del Extracto Etanólico de la Ortiga (<i>Urtica urens</i> L.).....	62
3.9.2.2.	Obtención del Extracto Etanólico de la Sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn)	63
3.9.3.	Marcha de Solubilidad	63
3.9.3.1.	Solubilidad de la Ortiga (<i>Urtica urens</i> L.)	63
3.9.4.	Tamizaje Fitoquímico	64
3.9.4.1.	Tamizaje de la Ortiga (<i>Urtica urens</i> L.) y de la Sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn)	64
3.9.5.	Prueba de Cromatografía en Capa Fina.....	68
3.9.5.1.	Cromatografía en Capa Fina - Alcaoides	68
3.9.5.2.	Cromatografía en Capa Fina - Flavonoides	69
3.9.5.3.	Cromatografía en Capa Fina - Antraquinonas.....	69
3.9.6.	Prueba de Espectrofotometría en el UV-VIS para la Cuantificación Total de Flavonoides.....	70
3.9.7.	Elaboración del gel	71
3.9.8.	Parámetros que debemos tener en cuenta para la Calidad de un gel	72
3.9.9.	Evaluación de Actividad Cicatrizante (Método de Incisión de Heridas en el Dorso).....	73
3.9.10.	Prueba de Toxicidad Aguda Dermal y Ensayo de la Actividad Cicatrizante en Heridas incisas en ratas.....	73
3.9.11.	Ambiente de Experimentación	74

3.9.12. Animales de Experimentación	75
3.10. Diseño Experimental	76
3.10.1. Toxicidad Aguda Dermal.....	76
3.10.2. Determinación de la Actividad Cicatrizante en Ratas con el Modelo de Heridas Incisas.....	77
3.10.3. Pasos durante el procedimiento de anestésiar a los animales de experimentación	78
3.10.4. Distribución de la muestra.....	79
3.10.5. Ensayo Preliminar	79
3.11. Evaluación histológica	80
3.11.1. Generalidades	80
3.11.2. Materiales	81
3.11.3. Histología de los tejidos (preparación tisular).....	82
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES	83
4.1. Resultados de la Identificación de Metabolitos Secundarios.....	83
4.1.1. Resultados de la Prueba de Solubilidad	83
4.1.2. Resultados del Screening Fitoquímico	84
4.1.3. Resultados Identificación de metabolitos primarios	85
4.1.4. Resultados de la lectura al espectrofotómetro.....	86
4.1.4.1. Ortiga	86
4.1.4.2. Sábila	87
4.1.5. Procesamiento de Datos: Resultados	88
4.1.5.1. Tratamiento Estadístico de las Muestras A, B y C con aplicación de 0,5 ML	88
4.1.5.2. Tratamiento Estadístico de las Muestras A, B y C con aplicación de 0,25 ML.	90
4.1.5.3. Tratamiento Estadístico de las Muestras A, B y C con aplicación de 0,125 ML.	92
4.1.6. Resultado en porcentajes por cada grupo de Tratamiento ..	94
4.1.6.1. Resultado del Grupo A.	94
4.1.6.2. Resultado del Grupo B	95
4.1.6.3. Resultado del Grupo C	96

4.1.6.4.	Resultados de comparación en porcentajes de Cicatrización Grupo A - Control Positivo	97
4.1.6.5.	Resultados de comparación en porcentajes de Cicatrización Grupo B - Control Positivo	98
4.1.6.6.	Resultados de comparación en porcentajes de Cicatrización Grupo C - Control Positivo.....	99
4.1.6.7.	Resultados de comparación general del área de cierre del Grupo A, B y C con el Control (+) y Control Negativo (-)	100
4.1.7.	Resultado de Estudio Histopatológico	101
4.1.7.1.	Resultados histopatológico del control negativo ...	101
4.1.7.2.	Resultados histopatológico del control positivo (Cicatrin).....	102
4.1.7.3.	Resultados histopatológico de la Muestra A y C (0,25 ML)	103
4.1.7.4.	Resultados histopatológico de la Muestra C (0,5 ML)	105
4.1.7.5.	Resultados histopatológico de la Muestra A (0,5 ML)	106
4.1.7.6.	Resultados histopatológico de la Muestra B (0,5 ML)	107
4.1.8.	Prueba de Hipótesis Efecto Cicatrizante	108
4.1.8.1.	Contrastación de Hipótesis Específicas	109
4.1.8.1.1.	Contrastación de Hipótesis Específica 1	109
4.1.8.1.2.	Contrastación de Hipótesis Específica 2	112
4.1.8.1.3.	Contrastación de Hipótesis Específica 3	120
4.2.	Discusión de los resultados	124

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	127
5.1. Conclusiones	127
5.2. Recomendaciones	128
BIBLIOGRAFÍA	129

ANEXOS:

- Anexo N° 1: Matriz de Consistencia
- Anexo N° 2: Matriz de Operacionalización de Variables
- Anexo N° 1: Formulación del problema de investigación.
- Anexo N° 2: Análisis del problema de investigación
- Anexo N° 3: Instrumento de Recoleccion de datos.
- Anexo N° 4: Juicios de Expertos
- Anexo N° 5: Matriz de validación por juicio de expertos.
- Anexo N° 6: Certificado de la sábila.
- Anexo N° 9. Certificado de la ortiga
- Anexo N° 7: Certificado de compra de animales y alimentación.
- Anexo N° 8: Diferentes procesos del trabajo de tesis.

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 01:	Formulación de las concentraciones del gel al 30% para uso	72
Tabla N° 02:	Tratamiento de la experimentación	77
Tabla N° 03:	Grupos de experimentación de animales	78
Tabla N° 04:	Concentración y dosis por cada grupo de experimentación	80
Tabla N° 05:	Resultado de la prueba de solubilidad.	83
Tabla N° 06:	Resultado de la Identificación de Metabolitos Secundarios	84
Tabla N° 07:	Resultado de identificación de metabolitos primarios.	85
Tabla N° 08:	Resultado promedio estadístico de las Muestras A, B y C con Aplicación de 0.5 mL.	88
Tabla N° 09:	Resultado promedio de las Muestras A, B y C con aplicación de 0.25 mL.	90
Tabla N° 10:	Resultado Estadístico de las Muestras A, B y C con aplicación de 0.125 mL	92
Tabla N° 11:	Del grupo A en concentración de 0.5mL.	115
Tabla N° 12:	Del grupo A en concentración de 0.25 ml.	115
Tabla N° 13:	Del grupo A en concentración de 0.125mL.	116
Tabla N° 14:	Del grupo B en concentración de 0.5mL.	116
Tabla N° 15:	Del grupo B en concentración de 0.25mL.	117
Tabla N° 16:	Del grupo B en concentración de 0.125mL.	117

Tabla N° 17:	Del grupo C en concentración de 0.5mL.	118
Tabla N° 18:	Del grupo C en concentración de 0.25mL.	118
Tabla N° 19:	Del grupo C en concentración de 0.125mL.	119
Tabla N° 20:	Control (+): Cicatrin ^R	119
Tabla N° 21:	Control (-) Agua destilada	120
Tabla N° 22:	Resumen general entre grupos de tratamiento, días y concentración	121

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 01:	Ortiga (<i>Urtica urens</i> L.)	19
Figura N° 02:	Sábila (<i>Aloe vera</i> L. Burn)	24
Figura N° 03:	Estructura básica de flavonoides	31
Figura N° 04:	Estructura del Acido Gálico (Tanino)	34
Figura N° 05:	Estructura de la Cafeina (Alcaloide).	37
Figura N° 06:	Estructura de la Cafeina (Alcaloide).	38
Figura N° 07:	Estructura de la piel	40
Figura N° 08:	Secado de la ortiga.	62
Figura N° 09:	Prueba de Solubilidad.	63
Figura N° 10:	Realizando Tamisaje Fitoquimico.	68
Figura N° 11:	Bioterio con animales de experimentación.	75
Figura N° 12:	Animales en la última semana de tratamiento.	76
Figura N° 13:	Preparacion de las muestras histopatológicas	81
Figura N° 14	Resultado de cuantificación de flavonoides totales de la ortiga	86
Figura N° 15:	Cuantificación de flavonoides totales de la sábila.	87
Figura N° 16:	Porcentaje de cicatrización	94
Figura N° 17:	Porcentaje de cicatrización del grupo B.	95
Figura N° 18:	Porcentaje de cicatrización en el grupo C.	96
Figura N° 19:	Porcentaje de cicatrización en comparacion del grupo A – CONTROL POSITIVO.	97

Figura N° :20	Comparación en porcentajes de cicatrización grupo B – control positivo.	98
Figura N° :21	Comparación en porcentajes de cicatrización del grupo B – control positivo.	99
Figura N° 22	Comparación en porcentajes de la comparación general de cicatrización del grupo A,B Y C con el control positivo y negativo.	100
Figura N° 23:	Cortes del control negativo	101
Figura N° 24:	Cortes del control negativo	101
Figura N° 25:	Cortes del control negativo	101
Figura N° 26:	Cortes del control positivo	102
Figura N° 27:	Cortes del control positivo	102
Figura N° 28:	Cortes del control positivo	103
Figura N° 29:	Cortes del grupo C.	103
Figura N° 30:	Cortes del grupo C.	104
Figura N° 31:	Muestra A	104
Figura N° 32:	Corte histopatológico de la Muestra C a 0.5ML.	105
Figura N° 33:	Corte histopatológico de la Muestra C a 0.5ML.	105
Figura N° 34:	Cortes del Grupo A	106
Figura N° 35:	Cortes del Grupo A	106
Figura N° 36:	Cortes del Grupo A	106
Figura N° 37:	Corte de Muestra B	107
Figura N° 38:	Corte de Muestra B	107
Figura N° 39:	Corte de Muestra B	108

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó la actividad cicatrizante del gel a base del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga) procedente de Tarma–Junín y El de extracto etanólico *Aloe vera* L. Burn (Sábila) procedente de Huaral. *Urtica urens* L. (Ortiga), *Aloe vera* L. Burn (Sábila), plantas diversificadas por todo el suelo peruano, de mucha importancia dentro de la medicina natural de usos terapéuticos. Se determinó los metabolitos secundarios mediante la marcha fitoquímica de: alcaloides glucósidos, flavonoides, antraquinona para la sábila, glúcidos, en ambas plantas. Luego se efectuó el screening cromatografico, teniendo como resultado la presencia de flavonoides en mayor proporción en la muestra de ortiga, en las lecturas al espectrofotómetro, se determinó la presencia de flavonoides totales en ambas muestras se encontró 2.95mg/mL para ortiga y 0.07mg/mL. Para la sábila. Para la investigación biológica y farmacológica tópica, se preparó un gel base de carbopol 940 y Metilparabeno, al cual se le añadió concentraciones del extracto para el gel A (veinte por ciento de ortiga y diez por ciento de sábila) al gel B (quince por ciento de ortiga y quince por ciento de sábila) al gel C (diez por ciento de ortiga y veinte por ciento de sábila) para el control positivo se usó el Cicatrin. En el experimento se usó 60 ratas machos de 220 g ± 40 g. Toxicidad aguda dermal. Está basado en la Guía OECD Test 402: Acute Dermal Toxicity .La técnica usada es escisiones en el dorso de cada uno de ellos, método por Nayak y col, 2005 (publicación validada en el PubMed). Se marcó el área de la escisión de aproximadamente 2cm² (1X1), demostrándose que existe actividad cicatrizante de los geles a diferentes concentraciones evidenciando que el gel A y C tienen mayor actividad en concentraciones de 0.5mL.de gel por día, los exámenes histopatológicos realizados el grupo C presenta mayor recuperación y aumento de colágeno a nivel dérmico ,se obtuvo los siguientes resultados del efecto con relación al control positivo (+) Cicatrin siendo el noventa y nueve por ciento de cierre de herida, el gel C (diez por ciento de ortiga y veinte por ciento de sábila) a dosis de 0.5 mL. Se obtuvo el noventa y cinco por ciento de cierre de herida, con el gel A (veinte por ciento de ortiga y diez por ciento de sábila) a dosis de 0.5mL. Se obtuvo el cierre del noventa y dos por ciento de cierre de herida.

Palabras Claves: APOPTOSIS, CICATRIZANTE, CROMATOGRFÍA, ELUCIDAR, ESPECTROMETRÍA, ESCICIÓN, HEMOSTASIA.

ABSTRACT

In this research work, the healing activity of the gel based on the ethanolic extract of the leaves of *Urtica urens* L. (Nettle) from Tarma - Junín and the extract of the ethanol extract *Aloe vera* L. Burn (Aloe) from Huaral was evaluated. *Urtica urens* L. (Nettle), *Aloe Vera* L. Burn (Aloe), plants diversified throughout the Peruvian soil, of great importance within the natural medicine of therapeutic uses the secondary metabolites were determined by the phytochemical march; of: alkaloids glucosides, flavonoids, anthraquinone for aloe, carbohydrates, in both plants. Then the chromatographic screening was carried out, resulting in the presence of flavonoids in a greater proportion in the nettle sample, in the readings to the spectrophotometer, the presence of total flavonoids was determined in both samples was 2.95mg / mL for nettle and 0.07mg / mL. for aloe. for topical biological and pharmacological research, a base gel of carbopol 940 and methylparaben was prepared, to which concentrations of the extract for gel A (twenty percent of nettle and ten percent of aloe) were added to gel B (fifteen per hundredth of nettle and fifteen percent of aloe) to gel C (ten percent of nettle and twenty percent of aloe vera) for the positive control was used Cicatrin. In the experiment 60 male rats of 220 g \pm 40 g were used. Acute dermal toxicity. It is based on the OECD Test Guideline 402: Acute Dermal Toxicity. The technique used is splits on the back of each of them, method by Nayak et al, 2005 (publication validated in the PubMed). The area of the excision was marked approximately 2cm². (1X1), showing that there is healing activity of the gels at different concentrations showing that gel A and C have higher activity in concentrations of 0.5mL of gel per day, the histopathological examinations made in group C have greater recovery and increased collagen at the dermal level, the following results were obtained in relation to the positive control (+) Cicatrin, ninety-nine percent wound closure, gel C (ten percent nettle and twenty percent aloe) at a dose of 0.5 mL. Ninety-five percent wound closure was obtained, with gel A (twenty percent nettle and ten percent aloe) at a dose of 0.5mL. Ninety-two percent closure of wound closure was obtained.

INTRODUCCIÓN

Las plantas y el hombre siempre han estado ligados, descubriendo sus propiedades curativas toxicológicas. La historia ha evidenciado que a pesar del paso del tiempo las plantas siguen contribuyendo con grandes beneficios para la salud a favor de la humanidad. Por lo tanto la naturaleza ha ofrecido recursos de alimentación y usos tradicionales en salud, sin los cuales el hombre no hubiera sobrevivido.

«La OMS apoya el uso de las medicinas tradicionales y alternativas cuando éstas han demostrado su utilidad para el paciente y representan un riesgo mínimo», ha declarado el Dr. LEE Jong-wook, Director General de la OMS. «Pero a medida que aumenta el número de personas que utiliza esas medicinas, los gobiernos deben contar con instrumentos para garantizar que todos los interesados dispongan de la mejor información sobre sus beneficios y riesgos.»

Una de vías de fácil acceso para el tratamiento y curación de enfermedades y heridas son el uso de plantas medicinales tradicionales, conocido por sus cualidades y propiedades farmacológicas desde tiempos remotos, y bajo costo económico, que están al alcance de la población. El objetivo principal de esta investigación fue desarrollar alternativas de fácil elaboración y de bajo costo de un gel a base del extracto etanólico de las hojas de Ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico del mucilago de la sábila (*Aloe vera* (L) Burn.). Para comprobar el efecto cicatrizante mediante la aplicación tópica en ratas albinas en comparación con el cicatrin^R.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

El desarrollo demográfico mundial expresadas en necesidades, carencias y demandas en educación, economía y salud, esta última representa una de las más alarmantes en países en vías de desarrollo como el nuestro por ello el sistema de salud pública se halla con limitaciones de cobertura en la dotación de medicamentos, por lo cual muchas personas recurren a las plantas medicinales como primera alternativa de tratamiento acogiéndose a prácticas ancestrales.

Estos problemas seguirán incrementándose si no se implementa controles adecuados para el requerimiento de urgencias médicas por problemas de heridas causadas por accidentes domésticos, las plantas que hoy en día son usadas de manera empírica aun sin tener conocimiento acerca de cuál de los metabolitos es responsable de muchas acciones terapéuticas, y muchas de ellas son usadas inapropiadamente o en combinaciones causando en algunas de ellas un efecto inmediato, algunas a largo plazo y algunas sin efecto, esta práctica se seguirá realizando sin mejora alguna si no se desarrolla alternativas para dar soluciones más concretas y efectivas.

El estudio de diversas plantas aún no está demostrado todo su potencial terapéutico, lo cual es muy amplio y diverso para la investigación. Estas propiedades de la planta nos conlleva a investigar otros efectos de otras plantas como es el caso de la ORTIGA (*Urtica urens L.*) Y SÁBILA (*Aloe*

vera L Burn) con la finalidad de conseguir mejoras, por ejemplo dándole uso como cicatrizante para solucionar demandas a futuro en pacientes con bajos recursos. Esta investigación contribuirá en tener alternativas más accesibles para una mejor atención primaria de heridas domésticas.

1.2. Formulación del problema

El Perú posee una diversidad de plantas de uso medicinal, por el cual es necesario e importante investigar, evaluar y registrar sus efectos terapéuticos, y así beneficiar a la sociedad de pocos recursos para la atención básicas de salud. El sistema de salud pública se encuentra con limitaciones de cobertura en la dotación de medicamentos, por lo tanto muchas personas recurren a las plantas como primera alternativa de tratamiento acogiéndose a prácticas ancestrales.

Es importante saber el grado de cicatrización que vamos obtener en esta investigación para optar como alternativas terapéuticas las plantas y hoy en día es amplio y diverso para la investigación. Estas propiedades de la planta nos lleva investigar otros efectos de la Ortiga (*Urtica urens* L.) y Sábila (*Aloe vera* L Burn) empleado como cicatrizante, para solucionar demandas a futuro en pacientes con bajos recursos. Esta investigación brindara aportes al campo científico apoyándose de los resultados para mejorar, aplicarla en futuras investigaciones y así tener usos terapéuticos confiables y solucionar demandas de las personas que no tienen accesibilidad a un medicamento de origen natural.

1.3. Problema general

¿Tendrá efecto cicatrizante el gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera* L. Burn) en ratas albinas?

1.4. Problemas específicos

- ❖ ¿Qué metabolitos secundarios se encuentran presentes en mayor concentración en el extracto etanólico de la ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de la sábila (*Aloe vera* L. Burn)?
- ❖ ¿En qué concentración el gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera* L. Burn) posee efecto cicatrizante ratas albinas?
- ❖ ¿Cuál es el porcentaje de cicatrización del gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera* L. Burn) en comparación con el cicatrin^R?

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

Comprobar el efecto cicatrizante de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera* L. Burn) en ratas albinas

1.5.2. Objetivos específicos

- ❖ Identificar algunos metabolitos secundarios de mayor concentración en el extracto etanólico de la ortiga (*Urtica urens* L.) y del extracto etanólico de sábila (*Aloe vera* L. Burn).
- ❖ Precisar la concentración del gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera* L. Burn) que posee mayor efecto cicatrizante ratas albinas.
- ❖ Determinar el porcentaje de cicatrización del gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera* L. Burn) en comparación con el cicatrin^R en ratas albinas.

1.6. Justificación

Esta investigación sobre el efecto cicatrizante del gel de Ortiga (*Urtica urens* L.) y Sábila (*Aloe vera* L Burn), busca ser una alternativa accesible para la cicatrización de heridas. Pretende dar aportes nuevos al conocimiento, debido a la elaboración de un producto nuevo con plantas ancestralmente usadas por la población. La investigación pretende establecer la conexión de la población con las plantas en la lucha contra las enfermedades.

Con esta investigación se beneficia a gran parte de la población que no tiene acceso inmediato a centros de salud pública, la elaboración y producción de este gel beneficiaría a la población de bajos recursos económicos, por ser un producto natural con grandes propiedades terapéuticas. L

A calidad y cantidad de los principios activos de la Ortiga (*Urtica urens* L.) y Sábila (*Aloe vera* L Burn), comprobadas en la parte experimental, serán usadas en la atención primaria, evidenciando que los principios activos de la ortiga (*Urtica urens* L.) y sábila (*Aloe vera* L Burn) ofrecen una mayor protección contra las enfermedades cuando actúan en combinación.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del Estudio

En la actualidad el hombre ha acumulado conocimientos de los usos, efectos terapéuticos, reacciones adversas e información científica de plantas medicinales que han aportado en la mejora de la salud y disminuir las dolencias causadas por las enfermedades. Sin embargo todavía hay plantas sin estudiar, también hay plantas poco estudiadas, siendo necesaria un enfoque distinto y buscando otros efectos que poseen estas, la ortiga (*Urtica urens* L) y la sábila (*Aloe vera* L Burn) con efecto cicatrizante.

2.1.1. Antecedentes Nacionales

GUTIÉRREZ, N et al. (2015). En su investigación “*Efecto cicatrizante de Bidens pilosa (amor seco) sola y en asociación a Lippia nodiflora (tikil tikil) en animales de experimentación*”. Se evaluó el efecto cicatrizante de *Bidens pilosa* (amor seco) sola y en asociación a *Lippia nodiflora* (tikil tikil) sobre heridas, se obtuvo extractos por el método de percolación, se realizó la marcha Fitoquímica mediante el identificó; terpenos, flavonoides, taninos y alcaloides. Se elaboró geles conteniendo 20 y 30% de los extractos de *Bidens pilosa* (amor seco) y de *Lippia nodiflora* (tikil tikil). Se utilizó el test de cicatrización descrito por Howes, para heridas incisas, se evaluó en comparación con (CICATRICURE®) la actividad cicatrizante. Al hacer el análisis de ANNOVA se demostró la eficacia cicatrizante a la concentración del 20% de amor seco y 30 % de Tikal aun nivel confianza del 0.05, pero

comparando estos grupos a un nivel de confianza al 0.05 el test de TURKEY, permitió observar específicamente que no existen diferencias entre los grupos tratados con la especialidad farmacéutica en gel (CICATRICURE®), con el gel con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30%, y el gel con la asociación de los extractos al 30%; estos son estadísticamente diferentes al grupo tratado con gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20%. Por lo que se concluye que el gel con extracto de amor seco al 20% es el de mayor eficacia cicatrizante a un nivel de confianza del 0.05 bajo un esquema experimental en ratas de laboratorio.

(2)

RAMOS N, (2012). *“Composición química, actividad antioxidante in vitro y evaluación cicatrizante in vivo del extracto metanólico de corteza de Brunfelsia grandiflora d. don “chiric sanango”.* Extracto por maceración con metanol; realizándose marcha Fitoquímica y posterior identificación y elucidación por análisis cualitativo de Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (CG/EM); presencia de alcaloides de núcleo indólico: La determinación de la actividad antioxidante in vitro del extracto metanólico se realizó por el método de captación del radical 2,2-difenilpicrilhidrazil (DPPH), no demostrando capacidad antioxidante. La actividad cicatrizante se hizo a través del diseño de pomadas en concentraciones de 1, 2, y 3 g % del extracto, en una pomada a base de manteca de cerdo. Se trabajó con un grupo control y un grupo intervención, teniendo como patrón cicatrizante el ungüento comercial Clorelace®. Se emplearon 36 ratones albinos adultos machos de la especie *Mus musculus*, separados en seis grupos de seis ratones cada uno. La cicatrización se evaluó utilizando el método tensiométrico de Howes et al, la eficacia de cicatrización de 59,4 % con la pomada al 3 % del extracto, mejor evolución histológica en el proceso de cicatrización. La efectividad del patrón farmacológico Clorelace®, muestra alta significancia

estadística en comparación con las otras concentraciones. Se concluye que este desempeño es debido a los componentes químicos de naturaleza alcaloide indólica del extracto metanólico.
(3)

MOREYRA P, et al. (2013). *“Evaluación del efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) en edema plantar inducido en animales de experimentación”*. Objetivo principal de evaluar el efecto antiinflamatorio de las partes aéreas de la ortiga colorada (*Cajophora rosulata*), a través de su extracto fluido y el gel elaborado con éste, a una concentración del 30% en animales de experimentación, mediante un modelo experimental de inducción de inflamación plantar mediante carragenina, los resultados de la cromatografía señalan la presencia de terpenos, saponinas, triterpenos, esteroides, taninos y alcaloides que va tener efecto antiinflamatorio. Gel conteniendo el extracto a una concentración del 30%. Tanto el gel y el extracto se sometieron a una evaluación del probable efecto antiinflamatorio de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (Ortiga colorada) en animales de experimentación. Se tuvo como control positivo al gel de diclofenaco al 1%. El volumen de la inflamación se midió en mililitros a través de pletismómetro digital... Luego de aplicar los estadígrafos (análisis de varianza y prueba de Tukey) se concluyó que solo el gel con extracto de ortiga colorada al 30% tiene una eficacia antiinflamatoria estadísticamente similar al gel de diclofenaco al 1%; por su parte el grupo tratado con el extracto puro, aplicado directamente sobre el edema plantar inducido en pata de rata tiene una eficacia que en términos de volumen de inflamación la cual ocupa un modesto lugar intermedio entre los grupos tratados con gel de ortiga colorada y grupo control, y estadísticamente diferente (y con un valor inferior) al grupo tratado con diclofenaco al 1%.(4)

ALMONACID A, (2012) En su investigación “*Efecto antiinflamatorio y cicatrizante del extracto liofilizado de aloe vera (aloe vera (l) Burn. f.) presentado en forma de gel farmacéutico*”. Se preparó el Gel del extracto de Aloe vera al 20% que fue aplicado por vía tópica en 40 pacientes entre las edades 20 a 50 años, de ambos sexos La medición se realiza desde que el paciente llega por Emergencia (tópico) por efecto de un trauma accidental, primero se evalúa para el diagnóstico clínico de la inflamación leve menores de 3cm de diámetro y moderadas diámetro mayores a 3cm. Se controla mediante la observación ectoscópica la disminución del tamaño de la inflamación, cambio de color en forma diaria en el establecimiento de salud o en su domicilio, usando como material una regla graduada en cm la medida de la inflamación por su diámetro (centímetros).

En los pacientes con contusiones leves tratados con el Gel liofilizado de Aloe vera, la lesión remitió en 7 días en promedio frente a los controles que tardaron más de 10 días.

En los pacientes con contusiones moderadas tratados con Gel liofilizado de Aloe vera, la lesión remitió en 7 a 10 días en promedio frente a los controles que tardaron más de 12 días.

En los pacientes con heridas de piel leves tratados con Gel liofilizado de Aloe vera, la lesión remitió en 7 a 8 días en promedio frente a los controles que tardaron más de 10 días. (5)

VÁSQUEZ J, (2014). En su investigación “*Efecto antibacteriano del extracto hidroalcolico de aloe vera sobre listeria monocytogenes y Pseudomonas aeruginosa*”. Tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólica del Aloe vera sobre la *Listeria monocytogenes* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se pesó 200 g de mucilago de Aloe y se añadió 200 mL de etanol de 96°, luego se procedió a licuar por 2 minutos, se dejó macerar por 48 horas para luego ser llevado a ebullición por

10 minutos, se filtró y se aforo con 100 ml de agua destilada hervida y fue conservado a 4° C. se prepararon concentraciones al 10%, 20%, 30% y 40%.

La actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de Aloe vera se determinó utilizando la técnica de difusión en Agar de placas, conteniendo Agar Muller-Hinton temperado a 45° C inoculado con la suspensión de los cultivos de *Listeria monocytogenes* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Las concentraciones que presentaron mayor actividad antibacteriana fueron en las de 30% y 40% el extracto hidroalcohólico del Aloe vera frente al crecimiento tanto para *Listeria monocytogenes* como para *Pseudomonas aeruginosa*. (6)

QUEIROLO P, et al. (2012) En su investigación "*Efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico de Aloe vera, L. sobre Streptococcus mutans*". El objetivo fue determinar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico de hojas de Aloe vera sobre *Streptococcus mutans*. Se utilizó el extracto etanólico ya liofilizado, en el tamizaje fitoquímico (Ensayo de alcaloides, quinonas, flavonoides, entre otros). Primero se realizó el método de dilución en caldo cerebro corazón (BID) y se determinó así la Concentración Inhibitoria Mínima del extracto.

Posteriormente con las concentraciones ya establecidas se procedió a elaborar los discos de sensibilidad utilizando 20 L. de las concentraciones de 6.25 mg/mL, 12.5 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL y 100 mg/mL del extracto y 20 f...l. De clorhexidina 0.12% y de agua destilada, para el control positivo y negativo, respectivamente. Estos discos fueron empleados para la prueba de sensibilidad bacteriana mediante el método de difusión de discos en agar Tripticasa soya (TSA). El tamizaje fitoquímico determinó presencia de quinonas y flavonoides, en mayor

proporción (+++), taninos y saponinas, en mediana proporción (++) y cumarinas fijas en poca proporción (+) en el extracto etanólico de Aloe vera. Se determinó que la concentración inhibitoria mínima (CIM) del extracto etanólico de Aloe vera, fue de 25 mg/mL, según la prueba de dilución en tubos. En el método de difusión en agar, solo presentaron efecto inhibitorio las concentraciones de 25 mg/mL, 50 mg/mL y 100 mg/mL, con halos de inhibición de mayor diámetro iguales a 6.5 mm, 7.7 mm. Y 8.8 mm respectivamente. El control positivo (clorhexidina 0.12%), presentó halos de inhibición de mayor diámetro (promedio de mayor diámetro igual a 13.8 mm.) que los del extracto etanólico de Aloe vera en todas las pruebas realizadas. El extracto etanólico obtenido de las hojas de Aloe vera presenta metabolitos con importantes propiedades antimicrobianas como quinonas, flavonoides, taninos, saponinas y cumarinas. Por consiguiente tiene efecto antimicrobiano frente a *Streptococcus mutans* a concentraciones de 25 mg/mL, 50 mg/mL y 100 mg/mL. El extracto etanólico de Aloe vera, actuó como agente bacteriostático frente a *Streptococcus mutans* y se puede considerar como un agente de mediana sensibilidad. (7)

2.1.2. Antecedentes Internacionales

FREIRE K, et al. (2017). “Uso de dos métodos de extracción fotoquímicos a base de jengibre (*Zingiber officinale* L.), oreganón (*Plectranthus amboinicus*) y ortiga (*Urtica dioica*), para el control in vitro de la monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par)” Se evaluó el uso de dos métodos de extracción fitoquímicos a base de Jengibre (*Zingiber officinale* L.), Oreganón (*Plectranthus amboinicus*) y Ortiga (*Urtica dioica*), para el control in vitro de la monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par), se hizo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x2+1 con 7 tratamientos y 4 repeticiones con el propósito de identificar el método y extracto más eficiente sobre el control del hongo *M.*

roreri. Al analizar el uso de dos métodos de extracción se observa que el método de maceración a base del extracto de Ortiga (*Urtica dioica*) presentó ser más eficiente en el control in vitro de monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par), de la misma forma el T7 (Maceración de Ortiga) predominó de los demás tratamientos al presentar el menor crecimiento radial del hongo con 12,75 mm a las 168 horas de siembra, mientras que el mayor porcentaje de inhibición del hongo sobre el control fúngico de la monilla lo presenta el método de extracción de infusión con 76,69% y en cuanto al extracto el más eficiente fue la Ortiga con 84,09% de inhibición.(8)

ALLAICA N, (2015). “Comparación del efecto cicatrizante de tinturas elaboradas a base de guarango (*Caesalpinia spinosa*) y sangre de drago (*Croton lechleri*) aplicados en ratones (*Mus musculus*)” Se comparó efecto cicatrizante de tinturas elaboradas a base de guarango (*Caesalpinia spinosa* Molina Kuntze) y Sangre de Drago (*Croton lechleri* Muell.-Arg) aplicados en ratones (*Mus musculus*). Mediante el método de maceración se obtuvieron las tinturas de dos plantas. Se experimentó en 8 grupos de ratones, usando: G (guarango (*Caesalpinia spinosa*) al 100%), SD (sangre de drago (*Croton lechleri*) al 100%), G1.SD1. (Guarango (*Caesalpinia spinosa*) y Sangre de Drago (*Croton lechleri*) 50%:50%) y G2.SD2. (Sangre de Drago (*Croton lechleri*) y Guarango (*Caesalpinia spinosa*) 70%:30%) respectivamente y como grupos controles: B (blanco), N (control negativo), C (control positivo con crema Lamoderm), E (control positivo con Eterol), administrados por vía tópica 100µL de tinturas en las heridas diarias, y posteriormente se realizó el análisis histopatológico. El Tamizaje Fitoquímico se mostró saponinas, flavonoides, taninos con alta evidencia. Con respecto a la actividad cicatrizante se concluye, que es más eficaz el tratamiento de SD1.G1. Que cicatrizó en 10 días, seguido por la tintura de G que duró 11 días,

SD2.G2 13 días, SD14 días, C15 días, E.18 días y finalmente el control negativo 22 días, mientras que en el análisis histopatológico el tejido cicatricial de todos los controles positivos y tratamientos se regeneraron al 100% y el del control negativo al 60%. Se recomienda realizar un producto comercial utilizando estas tinturas para uso veterinario. (9)

LÓPEZ Y, (2012). “*Evaluación de la toxicidad aguda y subaguda en ratones de los extractos hidroalcohólica de las especies vegetales: Urtica urens L. (ortiga) y Piper elongatum poir. (Matico)*”. En el presente estudio se determinó el perfil de toxicidad aguda y sub-aguda de los extractos hidro-alcohólicos de las especies *Urtica urens* L. (EHA-Uu) y *Piper elongatum poir* (EHA-Pe). Se adoptó un diseño experimental y los ensayos experimentales comprenden: determinación de la DL50, influencia de los extractos sobre la temperatura rectal, peso corporal, peso de órganos, parámetros hematológicos y bioquímicos. Los resultados obtenidos muestran que ambos extractos presentan efectos sobre el comportamiento general en grado variable en ratones machos, en los cuales se observaron modificaciones de la habilidad prensil, la pilo erección y conducta pasiva. Por otra parte, con dosis de 5000 mg/Kg y 1000 mg/Kg para ambos extractos se observó que los ratones hembras presentaron un aumento significativo del peso del hígado, acompañado del aumento de fosfatasa alcalina sérica. Con dosis de 5000 mg/Kg del EHA-Pe y con dosis de 1000 mg/Kg de ambos extractos se observó también un aumento significativo en el peso de los riñones acompañado del aumento de los niveles de creatinina y urea. Sobre la base de los resultados obtenidos, los EHA-Uu y EHA-Pe presentan un perfil toxicológico cuyos efectos observados a nivel de: peso de órganos (hepático y renal) y perfiles hematológico y bioquímico serían atribuibles a las altas dosis utilizadas en este estudio. (10)

REA K, (2016). En su investigación *“Utilización de una crema a base de ortiga (Urtica urens L.) Como cicatrizante en cuyes (Cavia porcellus) en el barrio San Francisco del Cantón Latacunga”* Se determinó la actividad cicatrizante de la crema a base de ortiga en cuyes, con el objetivo de evaluar el efecto que tiene la aplicación de la crema, para ello se utilizó el polvo de ortiga al cual se realizó el respectivo análisis fitoquímico. Se utilizaron 20 cuyes como unidades de estudio, que presentaron heridas cutáneas como secuelas provocadas por la sarna, a los cuales se les aplicó la crema, misma que se administró vía tópica diariamente por 15 días, posterior a esto las unidades de estudio permanecieron en observación por 15 días, para determinar si se observa alguna reacción. Los resultados fueron sometidos a un análisis de datos, los cuales fueron tomados diariamente de cada unidad de estudio, indicando así que la crema posee actividad cicatrizante efectiva en un tiempo promedio de 5 días en el cual la mayor parte de los casos de observación presentaron cicatrización completa. Se determina la actividad cicatrizante de la crema, en base a los días de cicatrización de cada una de las unidades de estudio, afirmando así la acción cicatrizante de la crema a base de ortiga. Al ser aplicados en forma tópica no presentan efectos adversos a nivel cutáneo. (11)

CANIZARES A. (2015) En su investigación *“Eficacia del gel casero de Aloe vera más propóleos al 5% al ser aplicado en la cicatrización por segunda intención en cobayos adultos machos y analizado mediante microscopio óptico”*. Tuvo como objetivo el investigar la eficacia del gel casero de aloe vera más propóleos al 5%, al ser aplicado durante la cicatrización por segunda intención en cobayos adultos machos y siendo analizado Se evaluó el efecto cicatrizante del gel del extracto de aloe vera más propóleos al 5% en 30 cobayos adultos machos, para lo cual se los dividió en dos grupos de 15 cobayos cada uno, a un grupo se le colocó el

gel, mientras que al otro grupo no se le colocó en la herida, estando en contacto únicamente con la saliva propia del animal, los resultados fueron satisfactorios ya que los cobayos a los que se les aplicó el gel de aloe vera más propóleos cicatrizaron de mejor manera que los cobayos que no fueron sometidos al gel. Para determinar si con la aplicación del gel de aloe vera mejora la cicatrización en los cobayos que fueron utilizados para la investigación se realizó una herida de aproximadamente 5mm de longitud de trazo irregular con una pérdida de sustancia de alrededor de 4mm, se aplicó el gel por un total de 5 días, con un lapso de tiempo de 8 horas por cada día es decir 3 veces por día. De acuerdo a los resultados obtenidos se determinó que el gel casero de aloe vera más propóleos al 5% mejora en un 25% la cicatrización por segunda intención. (12)

QUIROZ R. (2013). En su investigación, “*Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de nogal (*Juglans neotrópica diels*), ortiga (*Urtica dioica l.*), sábila (*Aloe vera*), en ratones (*Mus musculus*)*” Se utilizó el extracto de las tres plantas la cual se realizó el control de calidad, tamizaje fitoquímico, cuantificación, formulación y control de calidad del gel. Se experimentó en ratones divididas en 5 grupos: siendo A (control negativo), B (control positivo) utilizando lamoderm, C, D, E, a los cuales se les aplicó gel al 30% a diferentes formulaciones: F1 (10% Nogal, 10% Ortiga, 10% Sábila), F2 (15%Nogal, 10% Ortiga, 5% Sábila), F3 (20% Nogal, 5% Ortiga, 5% sábila) respectivamente, administrados vía tópica con hisopos estériles aplicando dos veces al día por tiempo requerido, y se extrajo la piel para el análisis histopatológico.

Después de las 24 horas, al no observarse irritación en la piel, se colocó al animal en cuba cromatografía que contenía éter etílico, el cual sirve para anestesarlo para realizar las heridas de 2 cm de longitud y 2 mm de profundidad, con la ayuda de un bisturí.

Posteriormente transcurrido 4 horas después de haber realizado las incisiones, se administró por vía tópica 0.5 g de gel en una concentración de (10% Nogal, 10% Ortiga, 10% Sábila) al Grupo C, en las concentraciones de (15% Nogal, 10% Ortiga, 5% Sábila), al grupo D, y en las concentraciones de (20% Nogal, 5% Ortiga, 5% Sábila) al grupo E, respectivamente a cada lote, se administraron los tratamientos dos veces al día (mañana/tarde) durante el tiempo requerido

Se concluye que el gel posee actividad cicatrizante, el tratamiento que dio mayor efecto cicatrizante es el grupo C de ratones que se les aplicó la F1 (10% Nogal, 10% Ortiga, 10% Sábila), en una concentración del 30% que tardó 6 días en cicatrizar totalmente la herida. (13)

COELLO R. (2012). En su investigación *“Elaboración y control de calidad de gel cicatrizante a base de sábila (Aloe vera) y caléndula (Caléndula officinalis)”*. Tuvo como objetivo elaborar y realizar el control de calidad del gel cicatrizante a base de sábila (*Aloe vera*) y caléndula (*Caléndula officinalis*).

El extracto hidroalcohólico de Caléndula se lo obtuvo por maceración y se identificó los principios activos por tamizaje fitoquímico y cromatografía de capa fina. En la elaboración del gel se utilizó 75% de cristales de sábila y 25% extracto hidroalcohólico de caléndula. Para la determinación de la actividad cicatrizante del gel en ratas wistar se realizó una herida en el lomo de 1cm de largo por 2mm de profundidad, se utilizó como grupo control óxido de zinc.

Al combinar 75% A. vera y 25% C. officinalis se produce un sinergismo entre las dos plantas potenciando de esta manera su actividad cicatrizante.

La formulación de gel que tiene mayor efecto farmacológico es la que se encuentra al 1 % (75% A. vera y 25% C. officinalis), la cual cumplió el efecto farmacológico deseado a los 5 días de su aplicación. (14)

2.2. Bases legales

2.2.1. Normas nacionales

- ❖ LEY N° 26842, ley general de la salud
- ❖ LEY N° 30407, Ley de protección y bienestar animal; artículo 25.
- ❖ LEY N° 21147 Ley Forestal y de Fauna Silvestre. Promover, normar, regular y supervisar el uso sostenible y la conservación de los recursos forestales y de fauna silvestre del País, en armonía con el interés social, económico y ecológico de la Nación.
- ❖ LEY N° 27300 Ley de Aprovechamiento Sostenible de Plantas Medicinales. Promover el aprovechamiento sostenible de plantas medicinales, en armonía con el interés ambiental, social y económico de la Nación.

2.2.2. Normas extranjeras

- ❖ México: Ley general de salud, Última Reforma DOF 27-01-2017
- ❖ México: Decreto ley de protección a los animales del distrito Federal; artículo 4.

2.3. Bases teóricas

2.3.1. Ortiga (*Urtica urens* L.)

2.3.1.1. Descripción General de la Ortiga (*Urtica urens* L.)

La ortiga, es una de las plantas que ofrece mayores ventajas al organismo y es muy simple de identificar, la razón por la cual genera una desagradable irritación es por el contacto que produce cuando esta tiene contacto directo con la piel ya que posee ácido fórmico que contiene en fitoterapia, sin embargo, es muy apreciable desde la antigüedad por sus excelentes cualidades medicinales.

Ya Dioscórides goza ampliamente sus virtudes y aplicaciones. Este reconocimiento terapéutico se ha mantenido a lo largo de la historia hasta la actualidad.

Se trata de una de las plantas más aprovechadas por su inequívoco reconocimiento. Existen distintas variedades fácilmente distinguibles cuyo comportamiento terapéutico es similar, aunque la ortiga mayor y menor son las más valoradas en fitoterapia. Como curiosidad señalaremos que la sopa de ortiga, o la ortiga misma es consumida como verdura, resulta un plato muy exquisito para los buenos gastrónomos.

El jugo fresco ha sido utilizado como un depurativo de acción general; asimismo como tónico y reconstituyente por las sales minerales y vitaminas que aporta.

2.3.1.2. Usos y propiedades de la Ortiga (*Urtica urens* L.)

Las partes usadas de la planta: raíz, tallo, hojas y flores. Las forma de preparación: infusión, tintura y jugo.

Uso interno.

Edemas, Nefritis, Obesidad, Hematuria, Epistaxis, Diarreas, Gota, Anemia, Catarros, Gripe, Reumatismo, Litiasis, Oliguria, Cistitis, Hemorroides, Metrorragia, Artritis, Diabetes moderada. Dismenorrea, Hipertrofia prostática, Disquinesia biliar, Ulceras varicosas.

Uso externo.

Dolores musculares, Laringitis (gargarismos), Faringitis (gargarismos), Estomatitis (lavados), Vaginitis (irrigación vaginal), Reumatismo, Seborrea.



Figura N° 1. Ortiga (*Urtica urens* L.).

Fuente: Elaboración propia

2.3.1.3. Distribución botánica de la Ortiga (*Urtica urens* L.)

Especie propia de Europa, introducida y ampliamente distribuida en América. En el Perú se ha llegado a naturalizar en toda la región costera y andina, donde frecuenta las comunidades locales y comunidades rurales en los escombros, basurales, alrededor de los corrales de ganado, en los sembríos de las laderas rocosas, de laderas abiertas o de pastizales.

2.3.1.4. Clasificación taxonómica de la Ortiga (*Urtica urens* L.)

La siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988)

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: HAMAMELIDAE

ORDEN: URTICALES

FAMILIA: URTICACEAE

GÉNERO: *Urtica*

ESPECIE: *Urtica urens* L.

Nombre vulgar: “**ortiga**”

Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Según constancia **N° 242-USM-2017**

2.3.1.5. Características botánicas de la Ortiga (*Urtica urens* L.)

Hierba anual, monoica, erecta o ascendente de 15-50 cm de alto. Tallo simple poco ramificada, recubierto de pelos urticantes. Hojas, inciso dentadas, apretadas, apiñadas, ovales de 2.5 cm de longitud por 0.6-3.0 cm de ancho, raramente más largas, redondeadas o agudas en el ápice, inflorescencia en glomérulos.

Flores unisexuales, subsistirles. Las masculinas con perigonio de 4 tépalos calicinos y con pelos en la cara exterior, 4 estambres opuestos a los tépalos; filamentos elásticos, encorvados o en capullos hacia el centro de la flor, anteras biloculares. Pistilodio cupuliforme.

Las flores femeninas con perigonio de 4 tépalos sepaloideas desiguales 2 grandes y 2 pequeños; ovario unilocular, uniovular,

estigma penicelado, sésil o subsésil. El fruto es un aquenio de 1,5-2,0 mm, fuertemente aplanados.

2.3.1.6. Composición química (*Urtica urens* L.)

Hojas: Clorofila a y b (2,5-3%), carotenoides (beta-caroteno). Flavonoides (0,7-1,8%) rutina, isoquercitrina (0,02%), quercetina, isoramnetina, kaenferol y ramnetol. Sales minerales (20%) (Hierro, calcio, sílice, azufre, potasio, manganeso). Ácidos orgánicos (caféico, clorogénico, gálico, fórmico, acético), provitamina A, B, C y K. Mucílagos. Escopoletósido. Sitosterol, Betaína, colina, polisacáridos, esterres del ácido cafeico, taninos.

En los tricomas (pelos urticantes): acetilcolina, histamina, serotonina (5- hidroxitriptamina), ácido acético, ácido gálico, ácido fórmico, colina

Raíces: Taninos. Fitosteroles: beta-sitosterol (0,03-0,20%), Ceramidas. Fenilpropanos. Lignanós. Polifenoles. Monoterpendioles. Aglutinina de la urtica dioica (lectina). Polisacáridos: glucanas, glucogalacturonanas, arabinogalactana. Escopoletósido. Flavonoides camarinas.

Semillas: Mucílagos, proteínas, aceite (30%), con un elevado contenido en ácido linoleico (73.7), material insaponificable. (12)

Flavonoides.- Principalmente kanferol, isorhamnetina, quercetina y sus heterósidos: 3- rutinósidos y 3 glucósidos en la hierba y similares glucósidos de flavonoles en las flores.

Aminas.- Pequeñas cantidades de histamina, colina, acetilcolina y la serotonina (5-hidroxitriptamina), sobre todo en los pelos urticantes.

Ácidos.- Ácido carbónico, ácido fórmico, ácido silícico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido glicérico, ácido málico, ácido oxálico, ácido fosfórico, ácido quínico, ácido succínico, ácido trenoico y treono-1 ,4-lactona (Barnes et al. 2002). Ésteres del ácido cafeico, principalmente ácido cafeoilmálico en *Urtica dioica* (hasta el 1,6%), pero ninguno de *Urtica urens*; ácido clorogénico (hasta el 0,5%), pequeñas cantidades de ácido neoclorogénico y ácido cafeíco en ambas especies.

Triterpenos y Esteroles.- Incluyendo β -sitosterol.

Cumarinas.- Escopoletina ca. 1-10 mg / kg de sustancia a base de hierbas.

Leucotrienos en el pelo.

2.3.2. Sábila (*Aloe vera* L. Burn)

2.3.2.1. Descripción General de la Sábila (*Aloe vera* L. Burn)

Tanto la historia como la leyenda se confunden en torno a la figura del Aloe a lo largo de los siglos, e incluso de los milenios. Conocida como "la planta de la inmortalidad" en el antiguo Egipto, solía utilizarse en los ritos de enterramiento así como también en el proceso de embalsamamiento de los faraones. Muchos la denominan "la planta bíblica" por las numerosas ocasiones en que aparece mencionada tanto en el Antiguo como en el Nuevo Testamento, donde, entre otras cosas, se relata cómo Nicodemo utilizó una mezcla de aloe y mirra para embalsamar el cuerpo de Jesús, (evangelio de San Juan). Al dios Báal-Zebut se le representaba con una planta de aloe en las manos como símbolo de la inmortalidad, de su poder regenerador de la vida. (15)

A partir del siglo VIII, los árabes, grandes conocedores de las virtudes que poseía esta planta, fueron los primeros que transformaron el Aloe vera en un extracto comercial, usándola tanto por vía oral como cutánea. Con prensas de madera, bien de viga y quintal o de husillo central y palanca, machacaban las hojas para extraer la savia y la pulpa. Seguidamente, almacenaban el jugo en pieles de cabra y luego la secaban al sol. El polvo de aloe resultante lo utilizaban, entre otros fines terapéuticos, como laxante. (16)

“Cuatro son los alimentos que resultan indispensables para el bienestar del hombre: el trigo, la uva, la oliva y el aloe. El primero lo alimenta, el segundo levanta su ánimo, el tercero le aporta armonía y el cuarto lo cura” (**Cristóbal Colón, 1451-1506**).

El Aloe, transportado en los navíos de los conquistadores colombinos, fue posteriormente difundido por los misioneros jesuitas en México, actualmente primer productor mundial. En los siglos XVI y XVII las plantas de aloe crecían abundantemente por todo el sur de la Península Ibérica [España y Portugal). En el continente americano, los aloes quedaron implantados en Puerto Rico, República Dominicana, Jamaica, Barbados, México, América Central, Florida y la parte norte de Sudamérica. (16)

El Aloe tiene la capacidad de aumentar la proliferación celular y ayudar de manera eficaz y rápida a la cicatrización de heridas en boca, sin embargo esta propiedad se puede hacer extensiva a cualquier tipo de lesión en piel, independientemente del origen, si es una quemadura, raspadura o cortada.

En el caso de heridas post-operatorias, como las de una cirugía de hemorroides, el Aloe vera aplicado tópicamente tiene un efecto analgésico y mejora la cicatrización de la herida... (17)

Debido a que el Aloe posee muchos efectos benéficos en piel, se ha buscado prolongar dicho efecto, por ello se ha propuesto formular productos farmacéuticos donde se encapsule en liposomas los extractos de Aloe vera para promover la síntesis de colágeno y aumentar la proliferación celular de la piel.(18)



Figura N° 2. SÁBILA (*Aloe vera* L. Burn).

Fuente: Elaboracion propia

2.3.2.2. Distribución botánica de la Sábila (*Aloe vera* L. Burn)

Por su aspecto, los aloes parecen cactus, pero en realidad su género botánico (*Aloe*) ha sido tradicionalmente clasificado en la familia de las Liliáceas, junto al ajo, la cebolla y el espárrago. El investigador inglés Tom Reynolds (2004) los consideró posteriormente como una nueva familia: las Oleáceas. Actualmente, pertenecen a las Xantoroáceas, subfamilia Asfodeloideas, unas plantas monocotiledóneas nativas de regiones templadas a tropicales, usualmente de hábitats áridos del viejo Mundo: la Cuenca del Mediterráneo, África y Arabia.

Se caracteriza por la capacidad que tienen sus especies de almacenar grandes volúmenes de agua en el tejido vegetal interior, así como de utilizar el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM),

Dentro de las características generales del Aloe vera se hace necesario resaltar su especial forma de realizar la fotosíntesis, que se define como un proceso físico-químico propio de las plantas por el cual se utiliza la materia inorgánica del medio ambiente y la energía solar (luz) para sintetizar compuestos orgánicos indispensables en el crecimiento, desarrollo y reproducción de las mismas. A partir del dióxido de carbono atmosférico (CO_2), de sales minerales y agua (H_2O), la planta es capaz de sintetizar azúcares en presencia de la luz solar, con desprendimiento de oxígeno (O_2) en la reacción.

Las plantas presentan diversas formas de actuación metabólica y bioquímicas, hay tres tipos: C3, C4, y CAM. Esta última vía, la utilizada por Aloe vera.

La ruta metabólica C3 se halla en la mayoría de los organismos fotoautótrofos, mientras que las vías C4 y CAM sólo están en algunas plantas vasculares.

Las plantas CAM presentan un alto grado de adaptabilidad al medio, donde sus modificaciones anatómicas y fisiológicas las hacen ser mucho más eficientes que las de tipo C3, por el mejor aprovechamiento del agua y la energía. Es en ambientes áridos con severas deficiencias hídricas, ya sean constantes o estacionales, donde las plantas CAM funcionan como auténticos especialistas en optimizar el uso del agua, siendo capaces de reducir hasta su tasa de crecimiento a favor de la supervivencia.

2.3.2.3. Identificación taxonómica de la Sábila (*Aloe vera* L. Burn)

Posición taxonómica, según el sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: LILIOPSIDA

SUBCLASE: LILIIDAE

ORDEN: LILIALES

FAMILIA: LILIACEAE

GENERO: *Aloe*

ESPECIE: *Aloe vera* (L) Burn.

Nombre vulgar: “**sábila**”

Determinado por Mg. María Isabel La Torre Acuy

Según constancia **N° 241-USM-2017**

2.3.2.4. Características botánicas de la Sábila (*Aloe vera* L. Burn)

Se trata de una planta perenne de la familia de las Liliáceas, caracterizada por alcanzar una altura de hasta 13 metros; tallo corto con hojas grandes, carnosas, gruesas, cóncavas en la parte superior y convexas en el envés, de entre 30 y 60 cm de largo por 7-8 cm de ancho, color verde o verde grisáceo (ocasionalmente manchadas) y con espinas de tonos claros en los bordes, rematadas con dos o tres espinas pequeñas en el extremo. Se hallan dispuestas en forma de rosetas (hasta 20), en cuya base se encuentran vasos conductores llenos de un látex de color amarillo-miel oscuro, de olor desagradable y sabor amargo. Las flores presentan una tonalidad variable rojizo-amarillentas, en forma de espiga piramidal, conformadas por seis piezas a lo largo de un pedúnculo de 25-35 cm de altura. El fruto es una cápsula

triangular delgada, que encierra en su interior a las semillas, en su mayor parte híbridas. Algunas variedades no producen semillas.

2.3.2.5. Hoja de la Sábila (*Aloe vera* L. Burn)

Dando un corte transversal a cualquier hoja madura de aloe vera, se pueden distinguir claramente tres tipos de tejidos (capas), que desde fuera hacia dentro son: la corteza o piel, una capa gruesa de color verde que protege y envuelve a la pulpa; los canales para la distribución de agua y sales minerales (xilema), azúcares (floema) y aloína (tubos peri-cíclicos), un jugo amarillento y amargo; y la pulpa, donde se halla el gel de aloe, una sustancia cristalina y constituida mayoritariamente por agua, ya que su materia seca es inferior al 1 %.

2.3.2.6. Capa externa o corteza

Da solidez a la hoja y se compone por múltiples capas entremezcladas de células flexibles y resistentes con cloroplastos que forman un tejido epitelial coriáceo. Las estomas permiten el intercambio líquido y gaseoso con el exterior, mientras que las células van sintetizando los componentes orgánicos que necesita la planta: carbohidratos, grasas y proteínas.

2.3.2.7. Capa fibrosa o tejido conductor

En el interior de la pulpa, justo por debajo de la corteza y adyacentes a la misma, se hallan dispuestos unos haces vasculares, a modo de pequeñas vainas. El número de dichos haces varía según sea el tamaño de las hojas y su edad. Esta capa está compuesta por tres tipos de vainas tubulares:

- a) Xilema: que transporta el agua y las sales minerales desde las raíces hasta las hojas.
- b) Floema: distribuye los materiales orgánicos elaborados en las hojas hacia el resto de la planta.

- c) Tubos peri-cíclicos: almacenan y transportan el acíbar a lo largo del margen de las hojas.

2.3.2.8. Usos y propiedades de la sábila (*Aloe vera* L. Burn)

Área dermatológica.

El contenido en mucílagos del gel de aloe explica su actividad emoliente sobre la superficie cutánea, en tanto las enzimas catalíticas y sustancias proteicas tipo lectinas bloquean la acción de enzimas involucradas en procesos inflamatorios (Robson M. et al., 1982). El aislamiento de compuestos fenólicos y enzimas (peroxidases) de reconocida actividad antioxidante a partir del gel y del extracto metanólico, sumaría un nuevo elemento a la capacidad regenerativa y protectora sobre piel. (19)

En un estudio efectuado sobre 27 pacientes que presentaban engrosamiento inflamatorio de diversas heridas quemantes en piel, la administración del gel de Aloe vera demostró una mayor rapidez de cicatrización y una mejor epitelización (respecto al control con vaselina), en las áreas tratadas de acuerdo con los controles histológicos realizados (Visuthikosol V. et al., 1995). Experiencias en animales con quemaduras de segundo grado determinaron un incremento de la microcirculación y un efecto cicatrizante y antiinflamatorio del gel de Aloe vera liofilizado (Somboonwong J. et al., 2000). (19)

Los compuestos esteróicos identificados por ejemplo en los extractos acuosos y clorofórmicos del gel de aloe, tendrían actividad antiinflamatoria debido a su semejanza químico-estructural con los antiinflamatorios esteroidales. Dicha actividad no fue hallada, por ejemplo, en el exudado o acíbar de aloe, rico en compuestos antraquinónicos (Suga T. & Hirata T., 1983). En tanto, las moléculas de bajo peso molecular contenidas en extractos frescos de gel de aloe (por ejemplo flavononas), han

demostrado ejercer efectos antiinflamatorios in vitro. En ensayos in vivo con conejillos de Indias, se evidenciaron efectos antiinflamatorios sobre edemas inducidos por aceite de croton (Davis R. et al., 1987). Otros estudios demostraron que el extracto etanólico de Aloe vera administrado en dosis orales de 500 mg/kg a ratas, resulta efectivo como analgésico y antipirético en pruebas experimentales realizadas, sin mostrar signos de toxicidad (Moshin A. et al., 1989).(19).

Sistema Inmunológico

Diversos estudios han evidenciado que la fracción polisacárida, y en especial el acemanán, estimularían directamente el sistema inmunológico, a través de una mayor actividad fagocitaria (producción de interleuquinas por parte de los macrófagos), estimulación de las células NK (natural killers) y mayor secreción de interferón (Mc. Analley et al., 1994; Djeraba A. & Quere P., 2000; Qiu Z. et al., 2000). En tanto, el acíbar de aloe presenta dos fracciones con actividad inmunomoduladora: de alto peso molecular (monosacárido de ácido glucurónico) y de bajo peso molecular (mezcla de derivados antracénicos). La primera fracción estimula la fagocitosis y protege a los leucocitos contra la acción deletérea de los radicales libres. En tanto, las antraquinonas, en presencia de leucocitos polinucleares, generan una disminución en la actividad del complemento C. Este conjunto de acciones sería responsable de los efectos antibacterianos (Peris J. et al., 1995). (19)

2.3.2.9. Composición química (*Aloe vera* L. Burn)

Del látex o acíbar de las hojas

Derivados antracénicos. Se encuentran principalmente en forma de heterósidos, y sólo una pequeña porción corresponde a derivados antracénicos libres (< 1%). El aglicón libre se conoce como aloe-emodina (aloemodol). Los heterósidos principales son:

barbaloína (20%), β -barbaloína, e isobarbaloína, los que por hidrólisis generan aloe-emodinas (hidro-ximetil-antraquinonas tales como la aloe-emodin-antrona) y sus glucósidos: aloinósidos A y B (O-glicósidos de barbaloína) y aloína (mezcla de glucósidos cristalinos del aloe con propiedades físicas y químicas variables). En menor medida se encuentra el ácido crisofánico (trazas). La presencia de aloinósidos y 5-hidroxi aloína sería exclusiva de ejemplares de Aloe ferox Miller (aloe del Cabo). La mayoría de los autores coinciden en señalar como sinónimos a la Aloína y Barbaloína.

Resina. Conformada por ácido cinámico en combinación con resinotanoles (origina las aloerresinas A, B, C y D). La aloerresina B (30%) se conoce también como aloesina.

Otros. Aloesona (aglicón de la aloerresina B), aloetina, emodina, ácido urónico, enzimas (amilasa, catalasa, oxidasa), aceites volátiles, goma, flavanonas, etc. No se encontraron taninos, pectinas, vitaminas, fenoles ni alcaloides. (19)

Compuestos fenólicos

Cromonas; Aloesina, aloeninas, aloeresinas

Antraquinonas; Aloína, aloemodina, aloinósidos, barbaloína, hidroxialoína, isobarbaloína

Las acciones que desencadenan son innumerables. Se le relaciona con poder laxante-purgante y con beneficios médicos: antifúngico, antimicrobiano, anticancerígeno y antioxidante. Así mismo algunos de ellos tienen función analgésica y antibiótica. (22)

2.3.3. Metabolitos Secundarios con efectos cicatrizantes y Antibacterianos

2.3.3.1. Flavonoides

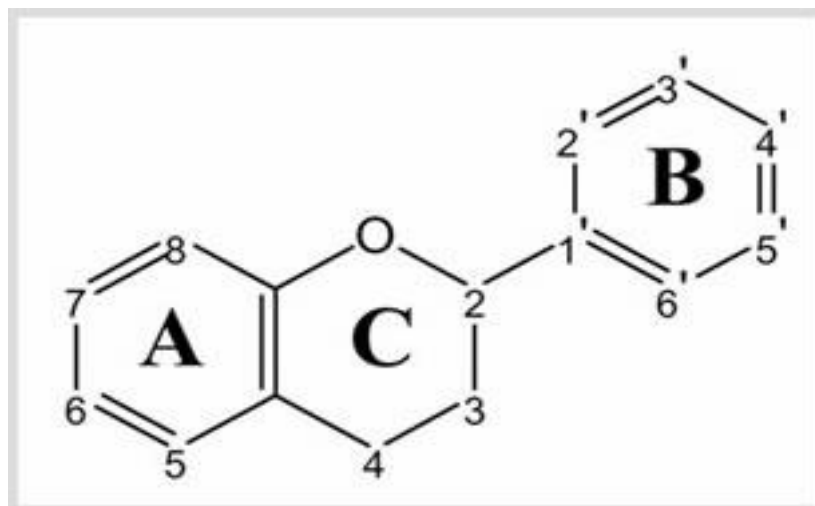


Figura N° 3. Estructura Base de un flavonoide.

Fuente : <https://es.wikipedia.org/wiki/Flavonoide>

Se conoce como flavonoide a los compuestos fenólicos que se encargan de proteger al organismo, en sí son pigmentos naturales hallados en el reino vegetal; tales como las semillas, frutas e incluso en bebidas como el vino. Se conocen más de 5.000 clases de diferentes flavonoides, se debe estimar que 23 mg/día en la ingesta humana, predominando así la quercetina con un valor medio de 16 mg/día; posee acción antioxidante y elimina radicales libres, ya que actúan como protectores frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas patologías (Martínez, González, & Culebras J. M. y Tuñón, 2002).

Los flavonoides son compuestos sólidos, cristalinos o amorfos de color blanco o amarillo. Su solubilidad depende de la forma en que se encuentran, sea como aglucones o como heterósidos. Los

aglucones son insolubles en agua, poco solubles en mezclas hidroalcohólicas y solubles en solventes orgánicos ya sean polares (EtOH, MeOH) o no polares (éter etílico, CHCl₃). Los heterósidos son solubles en agua, en mezclas hidroalcohólicas e insolubles en solventes orgánicos no polares.

El más común en los vegetales es la rutina (3-ramnoglucósido del flavonol quercetina). (41), denominados vitamina P por su descubridor, el Dr. Alberto Stent-Gyorgyi (Premio Nobel), los flavonoides existen desde que existen las plantas, pero no fueron reconocidos hasta 1930, año en que el Dr. Stent-Gyorgyi aisló de la cáscara del limón una sustancia, que denominó citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides no poseen muchas de las características de las vitaminas pero por su acción protectora y la imposibilidad del organismo humano de producirlos merecen que sean incorporados al grupo de los nutrientes esenciales. Además de poseer una acción beneficiosa, son muy poco tóxicos (la rutina tiene una DL50 menor a 10g/kg). Debido a su función fenol, los flavonoides son solubles en medio básico y producen una coloración amarilla que al acidificar la solución se transforma en incolora. Se identificaron más de 5.000 de estos compuestos, pero los más comúnmente utilizados son:

Citroflavonoides: Quercetina, hesperidina, rutina, naringina, canferol. Quercetina es un flavonol, el más común de los flavonoides, que está indicado en problemas alérgicos e inflamatorios, tiene efecto antioxidante, entre los vegetales que lo contienen podemos citar: tilo, crataegus, cebollas, manzanas, brócoli, cerezas, uvas, repollo rojo y arvejas. **Hesperidina:** Se encuentra en los hollejos de las naranjas y limones. Ayuda a fortalecer las paredes capilares cuando se emplea junto con la vitamina C.

Narangina: Le da el sabor amargo a frutas como la naranja, el limón. Canferol: tiene beneficios similares; está en las frutillas, puerro, brócoli, rábano, endivias y remolachas rojas.

Flavonoides: De la soja o isoflavonoides están presentes en los derivados preparados con soja: porotos, tofu, tempeh, leche, harina, miso. Los dos flavonoides (isoflavonas) principales presentes en la soja son: genisteína y daidzeína. Las personas que se alimentan con base de soja tienen disminuidos los riesgos de cáncer de piel.

Proantocianidinas: Son llamadas colectivamente oligómeros de proantocianidina u OPC.

Pueden ser absorbidos por las membranas celulares y protegerlas de los radicales libres. Tienen la ventaja de ser lipó e hidrosolubles: es decir, se disuelven en grasas (lípidos) y en agua, en contraste con otros antioxidantes que no poseen esa doble cualidad, son capaces de atravesar la barrera de la piel y protegerla de las lesiones de los radicales libres.

Además combaten la inflamación y las alergias y aumentan la efectividad de las células defensoras del sistema inmunológico. Están en las semillas de uva, vino tinto y extracto de corteza del pino marítimo.

Antocianidinas: Son pigmentos vegetales responsables de los colores rojo y rojo-azulado de las cerezas y otros frutos rojos (berries); protegen al tejido conectivo fortaleciendo al colágeno; también neutralizan los radicales libres y reducen la inflamación y el dolor. (41)

2.3.3.2. Taninos

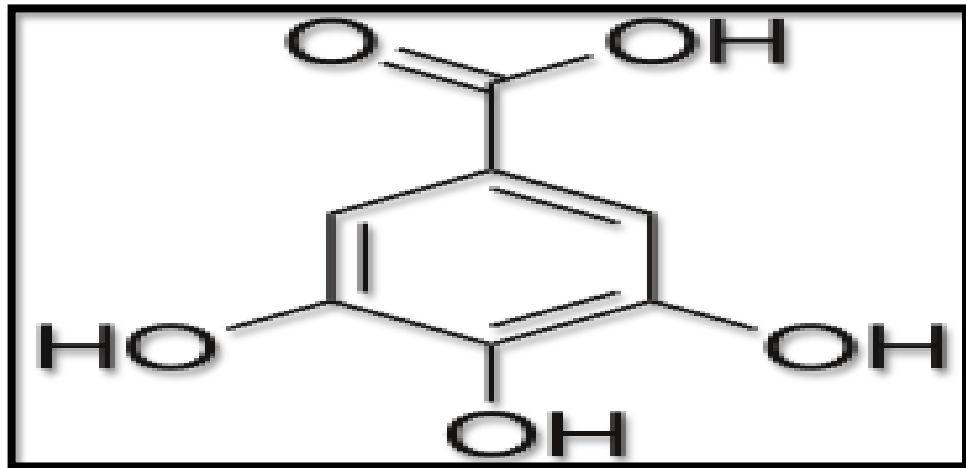


Figura N° 4. Estructura del Acido Gálico (Tanino).

Fuente : <https://es.wikipedia.org/wiki/Tanino>

Pertenecen al grupo de los compuestos polifenólicos de gusto amargo y muy astringentes; se clasifican en taninos hidrolizables o hidrosolubles, también denominados como pirogálicos, son hallados en pétalos de la rosa roja presentando 15% de taninos gálicos usadas como colutorios y lociones; en las hojas y cortezas destinadas tanto para vía interna como externa; también se presentan en la sumidad florida con un 10% de taninos elágicos empleadas en efectos antidiarreicos (Botero, 2011).

También se clasifican en taninos condensados llamados proantocianidinas, ya que trascienden de polímeros del flavonoide antocianidina; prioritariamente se los halla en maderas de plantas leñosas, poseen una estructura similar a los flavonoides pero carecen de osas en las moléculas. Entre ellos predominan los taninos catéquicos que poseen de 2 o más moléculas de 3-flavonoles y los leucoantocianos o procianidoles del mismo modo estructurados por 2 o más moléculas de 3,4-flavandioles (Cabrera, Morón, Victoria, & Acosta, 2012).

Los taninos son compuestos amorfos, solubles en agua, en la cual forman soluciones coloidales de reacción ácida y sabor muy astringente. Son solubles también en acetona y alcohol. Precipitan con los alcaloides y ciertas macromoléculas como las proteínas y la gelatina. (41)

Las drogas que contienen taninos así como los taninos parcialmente purificados como el ácido tánico y el ácido acetiltánico se usan como astringentes. En el tratamiento de quemaduras las proteínas de los tejidos expuestos precipitan y forman una capa protectora y antiséptica bajo la cual tiene lugar la regeneración de los tejidos.

Las drogas que contienen taninos así como los taninos parcialmente purificados como el ácido tánico y el ácido acetiltánico se usan como astringentes. En el tratamiento de quemaduras las proteínas de los tejidos expuestos precipitan y forman una capa protectora y antiséptica bajo la cual tiene lugar la regeneración de los tejidos. Los taninos son usados en la industria del cuero por sus propiedades tanantes. Este proceso no sólo altera el aspecto de la piel animal, sino que actúa como preservativo por sus propiedades antisépticas. Se usan también en la industria de tintas por su propiedad de dar color gris-negro con sales de hierro. Se usan en el laboratorio como reactivo para precipitar alcaloides, gelatina y proteínas.

2.3.3.3. Clasificación

Los taninos se clasifican generalmente según la identidad del núcleo químico involucrado y por la forma en que están unidos.

Taninos hidrolizables Formados por una o más unidades de ácido gálico o ácido hexahidroxidifénico esterificados con glucosa.

Estos ésteres son fácilmente hidrolizables en medio ácido o por medio de la enzima tanasa. Se distinguen a su vez en este grupo los galotaninos constituidos exclusivamente por ácido gálico y glucosa y el grupo de los elagitaninos que están constituidos por ácido hexahidroxidifénico (HHDP) y glucosa y ocasionalmente ácido gálico. Cuando estos últimos compuestos se hidrolizan se libera ácido elágico, por lactonización del HHDP. Los elagitaninos pueden a su vez presentarse como monómeros, con un solo núcleo de glucosa o como dímero, trímero u oligómero con 2, 3 o más núcleos de glucosa.

Taninos condensados o proantocianidinas o proantocianidinas oligoméricas o leucoantocianidinas o picnogenoles. Estos taninos resultan de la condensación de 2 o más unidades de flavan 3-oles como las catequinas o flavan 3,4 dioles como las leucoantocianidinas por una unión C-C. Por tratamiento con ácidos en caliente se rompen dichas uniones C-C y dan Antocianidinas monoméricas. Básicamente, estos taninos contienen sólo núcleos fenólicos, pero excepcionalmente pueden estar unidos a carbohidratos o proteínas. Cuando se tratan en condiciones ácidas estos compuestos tienden a polimerizarse, dando compuestos rojos insolubles denominados flobafenos.

Pseudotaninos. Son sustancias fenólicas de peso molecular relativamente bajo, como el ácido gálico, las catequinas o el ácido clorogénico, presentes en los extractos junto a los taninos, que precipitan con gelatina y pueden ser parcialmente retenidos por el polvo de piel.(41)

2.3.3.4. Alcaloides

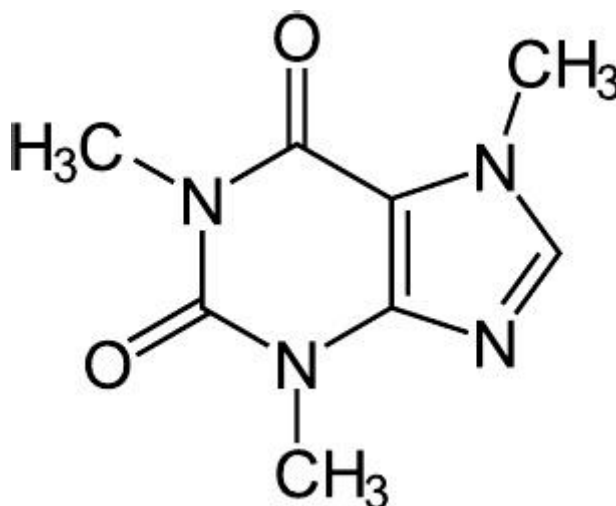


Figura N° 5. Estructura de la Cafeina (Alcaloide).

Fuente : <https://es.wikipedia.org/wiki/Cafeína>

Los alcaloides, son extremadamente difíciles de definir porque no representan un grupo homogéneo de compuestos, sea desde el punto de vista químico, bioquímico, ecológico o fisiológico. Por lo tanto, toda definición general debe formularse con reservas. En lo único en que coinciden es que son compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno básico; muchos de ellos son insolubles o poco solubles en agua, y reaccionan con los ácidos para formar sales. Existen sustancias relacionadas con los verdaderos alcaloides, pero cuyo nitrógeno es alifático, se llaman protoalcaloides (alkilaminas indólicas y feniletilaminas), Sus actividades biológicas son importantes por su mimetismo hormonal y su intervención en las reacciones principales del metabolismo celular. A pesar de ser sustancias poco similares entre ellas desde el punto de vista estructural, poseen propiedades fisiológicas análogas. Muchos alcaloides son la causa de intoxicaciones en humanos y animales. La forma más común es la intoxicación por infusiones con hierbas con fines medicinales, siendo esta una causa importante de muerte sobre

todo en niños. Su presencia en vegetales hace posible su incorporación accidental en alimentos, creando una vía fácil de intoxicación.

- ❖ Muchos alcaloides derivan de aminoácidos:
- ❖ Las purinas se forman de la glicina;
- ❖ Pirrolizidinas y tropanos se forman del grupo del ácido glutámico, la prolina y la ornitina;
- ❖ Las quinolizidinas se derivan de la lisina;
Los alcaloides del imidazol, de la histidina;
- ❖ Los alcaloides del indol, del triptofano;
- ❖ Las isoquinolinas provienen de la tirosina y L-DOPA, etc.(42)

2.3.3.5. Antraquinonas

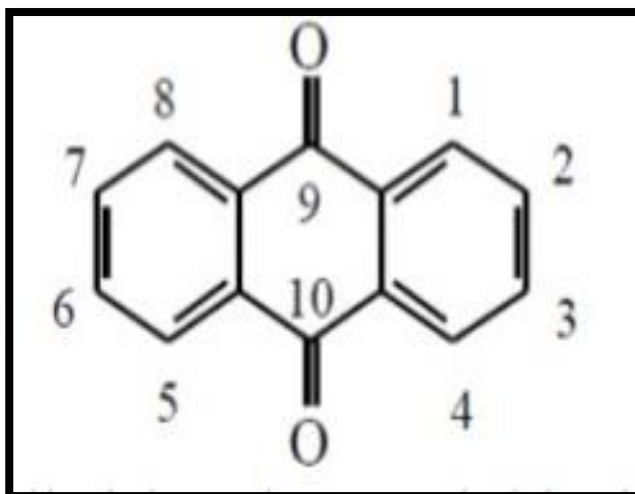


Figura N° 6. Estructura de antraquinona.

Fuente : <https://es.slideshare.net>

Entre los compuestos fenólicos cabe destacar las antraquinonas, que son por mucho el grupo más amplio de las quinonas naturales y son la base y fuente de una importante cantidad de colorantes,

además son una clase de metabolitos secundarios vegetales con una funcionalidad p-quinoides en un núcleo antracénico.

Definición y estructura. Las antraquinonas tienen dos grupos cetona-, su mayoría en posición 9,10 (ver figura 06). La antraquinona basal (9,10 dioxoantraceno), puede ser sustituida de varias formas, resultando en una gran diversidad de estructuras. Exhibiendo numerosas actividades biológicas que los hacen buenos candidatos para nuevas investigaciones biológicas o farmacológicas, entre otras aplicaciones.

Propiedades generales de las antraquinonas Las agliconas antraquinónicas son compuestos sólidos, cuyo color va desde el amarillo al pardo rojizo. Son solubles en solventes orgánicos: Éter, cloroformo, alcohol caliente, benceno. Los glucósidos antraquinónicos son cristalizados, estas tienen un color más pálido que la aglicona correspondiente y son solubles en agua caliente y soluciones hidroalcohólicas.

Funciones de las antraquinonas. Se ha reportado que las antraquinonas ejercen una amplia gama de actividades biológicas incluyendo antifúngico, antimicrobiano, anticancerígeno y antioxidante. Funcionan como analgésicos y poseen potentes propiedades antibióticas, tanto para virus como para bacterias.

Fuentes de las antraquinonas. Las antraquinonas están ampliamente distribuidas en microorganismos, plantas, equinodermos e insectos. Las familias vegetales más ricas en compuestos antracénicos son las rubiáceas, las 33 ramnáceas y las poligonáceas; y en una menor proporción las liliáceas, leguminosas, bignoniáceas, melastomatáceas, droseráceas, vismiáceas, etc. (43)

2.4. Farmacología dermatológica

2.4.1 La Piel

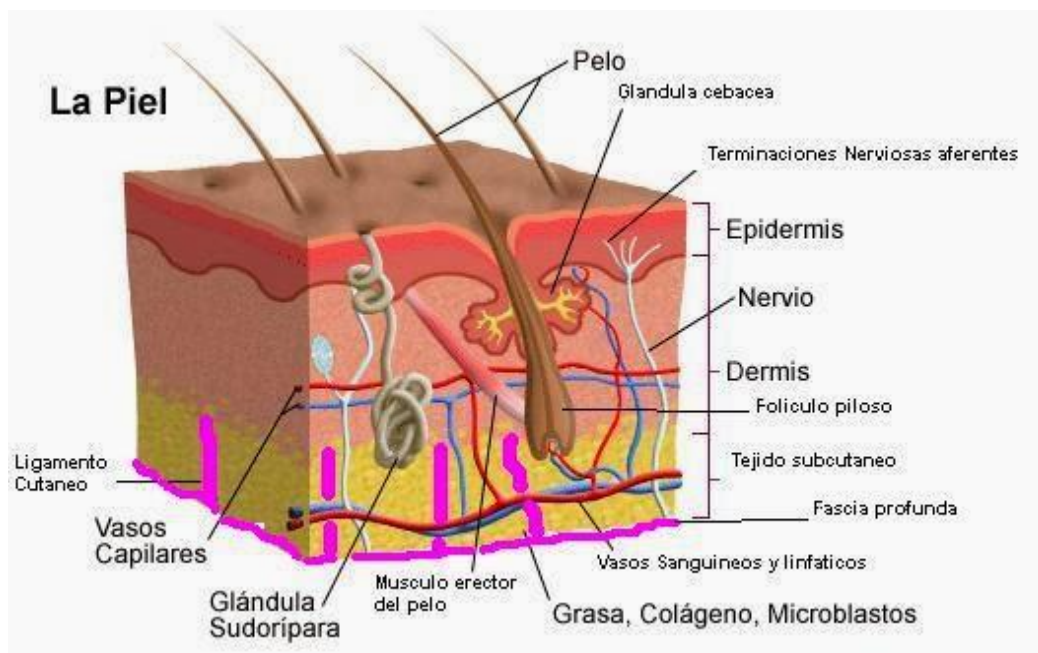


Figura N° 7. Estructura de la Piel.

Fuente: <http://www.biblioteca-medica.com.ar>

La piel es una estructura extraordinaria. Las personas dependen por completo de esta barrera de 1.7 m² que separa el ambiente externo potencialmente dañino del interior vulnerable del cuerpo. Está compuesta por varios tipos de tejidos que evolucionaron para actuar en armonía, uno con otro, cada uno de los cuales tiene modificaciones regionales para realizar una función distinta. La gran cantidad de tipos celulares y funciones de la piel, y su proximidad a los múltiples estímulos que podrían ser nocivos dan lugar a dos consideraciones importantes. La primera es que la piel se daña a menudo porque está justo en la "línea de ataque"; la segunda es que cada uno de los diversos tipos celulares que contiene puede "alterarse" y desarrollar sus propios trastornos degenerativos y neoplásicos. (31)

2.4.1.1. Función de la piel

La piel y sus apéndices (glándulas sudoríparas, folículos pilosos y uñas) constituyen un órgano complejo con muchos tipos celulares. Las propiedades de la piel, como el grosor de las capas cutáneas, la distribución de las glándulas sudoríparas y el número y cantidad de folículos pilosos, varían de diferentes partes del cuerpo. Sin embargo ciertas propiedades son comunes de la piel y de las áreas. Desde el punto de vista estructural, la piel está formada por dos capas principales: una capa de tejido epitelial superficial y más delgado, conocido como epidermis y otra de tejido conectivo más profundo y grueso, llamada dermis. La zona de la membrana basal es un límite entre la dermis y la epidermis. Una capa de tejido subcutáneo, algunas veces denominado hipodermis, sirve como lugar de almacenamiento para la grasa y tiene vasos sanguíneos que irrigan la piel.

2.4.1.2. Células de Langerhans

Las células de Langerhans son un subtipo de células dendríticas que residen en la epidermis. Son células presentadoras de antígeno que se origina en la médula ósea y forman parte del sistema fagocitado mononuclear. Estas células tienen un importante papel en el funcionamiento del sistema inmunitario de la piel.

2.4.1.3. Células de Merkel

Las células de merkel son células epidérmicas que participan en la sensación cutánea. Se encuentran intercaladas entre los queratinocitos del estado basal de la epidermis y son, en particular, abundantes en áreas de la piel donde la percepción sensorial es aguda, como la yema de los dedos.

2.4.1.4. Dermis

La dermis es una capa de tejido conectivo que se separa a la epidermis de la capa grasa subcutánea. Sirve de apoyo a la epidermis y es su fuente primaria de nutrición. El principal componente de la dermis es el colágeno un grupo de proteínas fibrosas. El colágeno representa el 70% del peso de la piel seca y es el principal material resistente de la tensión de la piel.

2.4.1.5. Dermis papilar

La capa papilar es relativamente fina e incluye la sustancia de las papilas y las crestas dérmicas. Contiene vasos sanguíneos que irrigan pero no penetran en la epidermis. Presenta prolongaciones nerviosas, algunas de las cuales finalizan en la dermis y otras perforan la lámina basal y penetran el compartimiento epitelial.

El hecho de que las vasos sanguíneos estén muy concentrados y estrechamente agrupados entre sí, es el responsable de que éstos sean bien visibles en las papilas dérmicas.

2.4.1.6. Dermis reticular

La capa reticular de la dermis es el área más gruesa de la dermis y forma el grueso de la capa dérmica. De esta capa gruesa se obtienen las pieles de animales para vestidos y calzado. (32)

2.5. Herida

Es la región anatómica donde queda interrumpida la continuidad celular entendiéndose por una solución de continuidad de las cubiertas externas que lo protegen, como es el caso de los tegumentos, las capas de revestimiento mucoso o de la superficie o cápsula fibrosa de los órganos.

Dicha lesión tisular es el común denominador de todo trauma y afecta al organismo en diversas formas, incluyendo pérdida local de fluidos, dolor por estímulos neurales y liberación de productos celulares a la circulación

2.5.1 Herida por incisión

Los modelos animales son necesarios y de gran importancia para el proceso de terapias adecuadas al proceso de cicatrización, permitiendo la recolección de datos y de ese modo evaluar la eficacia y seguridad necesarias para el uso en pacientes.

Hay modelos que han sido empleados para reproducir heridas agudas, heridas crónicas o con cicatrización deficiente. En esta investigación se emplea el modelo para reproducir heridas agudas.

Existen varios modelos animales de cicatrización de heridas agudas en diferentes sitios anatómicos, incluyendo heridas generadas por objetos corto punzantes, incisiones/escisiones quirúrgicas, injertos o implantes de piel y quemaduras.

Los modelos más ampliamente utilizados para evaluar las terapias cicatrizantes o mecanismos de cicatrización corresponden a las heridas por incisión o escisión generadas en el dorso de roedores.

(25)

❖ **Heridas por incisión** Estas heridas son comparables con heridas quirúrgicas. Fáciles de reproducir y pueden realizarse en cualquier tipo de animal. El proceso de reparación ocurre por reepitelización dentro de los días 1-2 posteriores a la generación de la herida. Estas heridas son ideales para análisis biomecánicos de la fuerza de tensión, así como análisis histopatológicos e inmunohistológicos.(26)

❖ **Heridas por escisión** Estas heridas pueden ser de espesor total o parcial, ambas involucran la remoción de tejido, resultando en un defecto. Las de espesor parcial involucran la remoción de la epidermis y la capa papilar de la dermis. La reepitelización ocurre rápido a partir de los bordes de la herida

y de los apéndices de la epidermis. (27) Por el contrario, las heridas de espesor total involucran la remoción desde la dermis hasta la grasa subcutánea subyacente a la fascia o cartílago. El proceso de reparación de heridas combina la contracción de la herida, la formación de tejido de granulación y la reepitelización a partir de los bordes.(26)

- ❖ **Heridas por quemadura** Los modelos de heridas por quemaduras han sido desarrollados para evaluar el tratamiento de algunas variables como los tipos de cubrimiento utilizados, control de la infección, tiempo de debridamiento y los injertos de piel. (28). La metodología experimental para producir las heridas por quemadura varía desde infringirlas con un flameador o con un objeto metálico de alta conductividad como el aluminio, caliente o congelado(29)

2.6. Cicatrización

La cicatrización es un proceso dinámico, interactivo en el cual participan mediadores solubles extracelulares, células sanguíneas, células de la matriz tisular, y del parénquima.

Proceso de cicatrización secuencia de eventos bioquímicos complejos y ordenados que ocurren en respuesta a las lesiones tisulares y conducen a la reconstrucción del mismo.

Fases de la cicatrización hemostasia, inflamatoria, proliferativa o de granulación, de epitelización y de remodelación.

2.6.1 FASE I - Hemostasia

Una vez ocurre la lesión se produce el daño en los vasos sanguíneos con la consiguiente pérdida de plasma, células y factores hacia el intersticio. La hemostasia y coagulación se inicia con la activación de los elementos celulares de la sangre y lleva a

la formación del coágulo o tapón hemostático, proceso en el cual interfiere la cascada de los factores de la coagulación y el fenómeno de agregación plaquetaria. (34)

Inicialmente se adhieren las plaquetas al intersticio, donde la trombina y el colágeno fibrilar expuesto las activa, como resultado de esta activación se produce su degranulación, liberando numerosos mediadores: entre ellos fibrinógeno, fibronectina y trombospondina que intervienen en la agregación plaquetaria, el factor VIII, de Von Willebrand que contribuye a la adhesión plaquetaria, actuando como puente de unión entre el colágeno subendotelial y el receptor plaquetario de integrina $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ y el Adenosin difosfato y la trombina que atraen más plaquetas a la zona lesionada.(35)

Todo esto da lugar a la agregación plaquetaria y a la formación de un tapón hemostático

2.6.2 FASE II - Inflamatoria

Esta fase se caracteriza por la migración de neutrófilos a la herida, atraídos por factores quimiotácticos específicos, como el factor estimulador de colonias de granulocitos / macrófagos (GM-CSF), la kalikreína y los fibrinopéptidos, que aumentan la expresión del complejo dimérico CD11/CD18, facilitando la marginación vascular y la posterior diapédesis.

Una vez los neutrófilos migran al intersticio, se dan las interacciones “célula-célula” y “célula-matriz” favorecidas por las integrinas iniciando así la función de fagocitosis de bacterias y proteínas de la matriz por medio de liberación de enzimas específicas (hidrolasas, proteasas y lisozimas) y radicales libres de oxígeno.

Finalmente, los neutrófilos agotados quedan atrapados en el coágulo y se disecan con él, y los que permanecen en tejido viable mueren por apoptosis y posteriormente son removidos por los macrófagos o fibroblastos.

2.6.3 FASE III - Proliferativa o de Granulación

Los fibroblastos constituyen las células más importantes en la producción de matriz dérmica, llegan a la herida desde músculo, tendón, fascia y una vez en el lecho de la lesión, migran con movimientos activos sobre una matriz laxa de fibronectina, para ello el PDGF hace que exprese receptores de integrina $\alpha 1$ y $\alpha 5$, posibilitando la migración e interacción con los demás factores de crecimiento. La hipoxia en el centro de la herida, favorece la liberación de factores de crecimiento estimulantes de la proliferación de fibroblastos (TGF $\beta 1$, PDGF, FGF, EGF y VEGF).

2.6.4 FASE IV - Epitelización

Para que se lleve a cabo la epitelización de la herida, los queratinocitos deben migrar desde los bordes de la herida o desde los anexos remanentes con el fin de restablecer la barrera cutánea, dicha migración se produce gracias a cambios en su fenotipo que consiste en la pérdida del aparato de adhesión gracias a la retracción de los tonofilamentos y disolución de los desmosomas; adquisición del aparato motor por el desarrollo de filamentos de actina y la proyección de lamelopodios hacia la herida; y la expresión de citoqueratina 6 y 16, las cuales son marcadores del estado activo; estos procesos conllevan a la pérdida de unión de las células epidérmicas entre sí, a la membrana basal y a la dermis subyacente, permitiendo su migración.

2.6.5 FASE V - Remodelación o de Contracción

Es la última etapa, comienza al mismo tiempo que la fibroplasia y continúa por meses. La célula principal es el fibroblasto que produce fibronectina, ácido hialurónico, proteoglicanos y colágeno durante la fase de reparación, los cuales sirven como base para la migración celular y soporte tisular. Con el tiempo la fibronectina y el ácido hialurónico desaparecen por acción de proteasas y hialuronidasas respectivamente.

Posteriormente, el colágeno tipo III es reemplazado por el de tipo I, siendo éste más estable y similar al original. La degradación del primer colágeno se debe a la acción de las metaloproteinasas de la matriz (colagenasas, gelatinasas y estromalinasas), cuya actividad depende de los iones de zinc y que son estimuladas por factores de crecimiento y la matriz extracelular.(36)

2.7. Tipos de Cicatrizantes

La administración de medicamentos por vía tópica es el procedimiento por el cual se aplica un medicamento directamente sobre la superficie de la piel o las mucosas de distintos órganos para ejercer una acción local o para que sea absorbido y tenga una acción sistémica.

Dentro de sus principales objetivos se encuentran el proteger la piel y mucosas, aliviar el dolor y el prurito, lubricar y suavizar la piel, controlar la infección, estimular la cicatrización, disminuir la inflamación y administrar medicamentos trasdérmicos de efecto sostenido; dentro de las indicaciones más frecuentes para administrar medicamentos tópicos están diversas enfermedades de la piel como el eccema o dermatitis, acné, psoriasis; infecciones de la piel como el impétigo, erisipela, celulitis, foliculitis; infecciones micóticas que se denominan tiñas y, finalmente, las infecciones virales causadas por el virus del herpes.(37)

Es importante mencionar que para tratar esas enfermedades existe la terapia tópica que cuenta con varias formas farmacéuticas, las cuales se utilizan de acuerdo con las características de la enfermedad de la piel.

Estas se clasifican en cuatro grupos:

- ❖ Medicaciones líquidas: lociones (emulsiones, suspensiones) y tinturas.
- ❖ Medicaciones semisólidas: cremas, geles, pomadas (ungüentos), pastas.
- ❖ Medicaciones sólidas: polvos.
- ❖ Parches transdérmicos (37)

Por otro lado, es importante resaltar la absorción de medicamentos por vía tópica, en donde la piel tiene un escaso poder de absorción al tener un epitelio poliestratificado de células cornificadas en la epidermis con una función de protección y no de absorción, que no se deja atravesar por agua ni sustancias hidrosolubles porque la piel está intacta y sirve de barrera natural a la difusión de los fármacos; sin embargo, hay algunas circunstancias que favorecen la absorción cutánea de los fármacos. Las más importantes son la inflamación local, la edad (a menor edad mayor absorción), la zona tratada (absorben más la cara, la espalda, las axilas y los pliegues), la extensión de piel tratada, el propio fármaco y cuando la epidermis sufre abrasiones, heridas y quemaduras, es decir, cuando la piel deja de estar intacta y pierde su integridad, lo que facilita el paso de fármacos a través de ella. (37)

2.8. Lineamientos Generales para el Tratamiento por Vía Tópica

Procedimientos mediante el cual se proporciona al paciente medicamentos indicados para su absorción por vía cutánea, con técnica aséptica y respetando los principios básicos de seguridad para una administración correcta y segura.

- ❖ **Dosis.** El paciente debe recibir una cantidad suficiente del fármaco tópico para cubrir las superficies afectadas, en aplicaciones repetidas. Una norma general es que se necesitan unos 30 g para cubrir la superficie afectada.

- ❖ **Variación anatómica regional.** La permeabilidad suele ser inversamente proporcional al espesor del estrato córneo. La penetración de un fármaco es mayor en la cara, en las zonas intertriginosas, en particular en el perineo. Por ello la piel en tales regiones puede ser más susceptible a sustancias irritantes y a las reacciones alérgicas por contacto.
- ❖ **Hidratación.** La absorción de un fármaco aumenta con la hidratación, que se define como un incremento del contenido de agua del estrato córneo, producido por la inhibición transepidérmica de la pérdida de agua. Entre los métodos de hidratación están la oclusión con una película impermeable, aplicación de vehículos oclusivos lipófilos como las pomadas, y el humedecimiento de la piel seca antes de ocluirla.
- ❖ **Vehículo.** Muchos factores influyen en la rapidez y magnitud con que se absorben los medicamentos tópicos. Muchos de ellos están incorporados en bases o vehículos que se aplican directamente en la piel. El vehículo escogido influye en la absorción del fármaco y es un elemento que interviene en su eficacia terapéutica; por ejemplo, una pomada es más oclusiva y tiene mejores propiedades emolientes que una base de crema o loción.
- ❖ **Frecuencia de aplicación.** Por lo general, los agentes tópicos se aplican dos veces al día. En el caso de algunos medicamentos, la aplicación única de una dosis mayor puede ser igual de eficaz que las aplicaciones frecuentes de dosis menores. El estrato córneo puede actuar como depósito del fármaco y permitir así su penetración gradual en las capas viables de la piel durante un periodo largo.(33)

2.9. Formulación del Gel para aplicación tópica con efecto cicatrizante

Consideraciones de la forma farmacéutica de uso tópico;

Para la preparación de un de un medicamento de aplicación y acción tópica, se debe considerar:

a) Elección del principio activo adecuado.

Debe tenerse presente que los principios activos deben presentar un alta especificidad para el tipo de afección.

b) Elección de la forma farmacéutica y excipientes adecuados.

Hay que tener precaución en la elección de la forma farmacéutica, que liberen con facilidad el principio activo. Los vehículos utilizados en las formas farmacéuticas tópicas deben poseer una serie de características farmacotécnicas de tipo general y otras específicas, relacionadas con las condiciones de su utilización concreta.

Características de las formas farmacéuticas:

- ❖ pH Debe ser neutro o débilmente ácido (4.5-7.0), lo más próximo al de la piel.
- ❖ Características organolépticas no desagradables.
- ❖ Compatibilidad con los principios activos que incorporan, asegurando su estabilidad física y química.
- ❖ El preparado debe presentar una adecuada extensibilidad y adaptabilidad a la superficie y cavidades cutáneas: Propiedades reológicas. Para ello es recomendable que posea un flujo de tipo plástico- tixotropico, lo que permite mantenerlo localizado y adherido a la zona tratada.
- ❖ No debe presentar efectos de irritación primaria ni sensibilizaciones.
- ❖ Buena tolerancia.

c) Permeabilidad de la piel y efectos cosméticos del vehículo.

Se debe definir a que nivel de la piel debe llegar el principio activo (dermis, epidermis o tejido celular subcutáneo) para ello debemos tener en cuenta ciertas premisas para una adecuada absorción.

- ❖ Peso molecular.
- ❖ Estructura molecular (configuración química).
- ❖ Grado de hidratación de la capa cornea.

Excipientes para gel.

- ❖ Carbómero: En su estructura molecular cuenta con gran cantidad de grupos carboxilo, propiedad que le permite aumentar su volumen en presencia de agua. Al disolverse en el agua, las moléculas de carbopol cambian su configuración e incrementan la viscosidad del líquido, dando lugar a la formación de un gel. (Gelificación)
- ❖ Glicerina: Como inhibidor de cambios enzimáticos durante la fermentación de ungüentos, pastas o crema, aportan a la piel elasticidad y humedad. Da blancura a la piel y la suaviza, humectante tópico.
- ❖ Trietanolamina: Actúa como una base química débil debido al par solitario de electrones en el átomo de nitrógeno. Este producto químico se utiliza para ajustar el pH en preparaciones, hace que el Carbómero se haga más espeso. Se coloca al final.
- ❖ Metilparabeno: Sirve como conservador en productos alimentarios y farmacéuticos, controlan el crecimiento de hongos y levaduras y en menor grado de bacterias.
- ❖ Agua destilada: Fase acuosa (30)

2.10. Formulación de la hipótesis

2.10.1. Hipótesis general

El gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens L.*) y extracto etanólico de la sábila (*Aloe vera L. Burn*) posee efecto cicatrizante en ratas albinas.

2.10.2. Hipótesis específicas

- ❖ Existen metabolitos secundarios en el extracto etanólico de la ortiga (*Urtica urens L.*) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera L. Burn*).
- ❖ Existe una concentración del gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens L.*)

y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera L. Burn*) que posee mayor efecto cicatrizante en ratas albinas

- ❖ El gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens L.*) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera L. Burn*) tiene efecto cicatrizante en comparación con el cicatrin^R en ratas albinas.

2.11. Operacionalización de Variables e Indicadores

2.11.1. Variables

- ❖ Variable independiente: Gel a base de extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens L.*) y extracto etanólico del mucilago de sábila (*Aloe vera L. Burn*)
- ❖ Variable dependiente: Efecto cicatrizante.

2.11.2. Dimensiones

- ❖ Dimensión de la variable independiente: Fitoquímico y galénico.
- ❖ Dimensión de la variable dependiente: Farmacológico.

2.11.3. Indicadores

- ❖ Indicador de la variable independiente:
Identificación de metabolitos secundarios
Concentración del extracto a evaluar:
Gel al veinte por ciento y diez por ciento.
Gel al quince por ciento y quince por ciento.
Gel al diez por ciento y veinte por ciento.
Cicatrin.
Agua destilada
- ❖ Indicador de la variable dependiente.
Cambios en la disminución de la herida:
Tamaño medido con un vernier calibrado.

2.12. Definición de Términos Básicos

- a) **Apoptosis:** Es una vía de destrucción o muerte celular programada o provocada por el mismo organismo.
- b) **Cicatrizante:** Sustancia, medicamento que favorece y acelera la cicatrización.
- c) **Cromatografía:** Método de análisis que permite la separación de gases o líquidos de una mezcla por adsorción selectiva, produciendo manchas diferentemente coloreadas en el medio adsorbente; está basado en la diferente velocidad con la que se mueve cada fluido a través de una sustancia porosa.
- d) **Elucidar:** Dilucidar o aclarar una cosa.
- e) **Espectrometría:** Técnica de análisis que permite determinar la distribución de las moléculas de una sustancia en función de su masa.
- f) **Excipientes:** Sustancia inactiva usada para incorporar el principio activo. Además pueden usarse para ayudar al proceso de fabricación de un producto.
- g) **Escisión:** Puede aplicarse a la cortadura o extirpación de un órgano.
- h) **Extracto:** Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos.
- i) **Hemostasia:** Contención o detención de una hemorragia mediante los mecanismos fisiológicos del organismo o por medio de procedimientos manuales, químicos, instrumentales o quirúrgicos.
- j) **Incisión:** Corte hecho en un cuerpo o una superficie con un instrumento cortante o agudo.
- k) **Inhibición:** Consiste en suspender por un cierto lapso de tiempo alguna función orgánica o la acción de un medicamento, ante determinados estímulos.
- l) **Metabolito secundario:** Compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es letal para el organismo.
- m) **Percolación:** Se refiere al paso lento de fluidos a través de materiales porosos.

- n) **Permeabilidad:** Capacidad de un material para que un fluido lo atraviese sin alterar su estructura interna. Se afirma que un material es **permeable** si deja pasar a través de él una cantidad apreciable de fluido en un tiempo dado.
- o) **pH:** Indica el grado de acidez o basicidad de una solución, éste se mide por la concentración del ion hidrógeno; los valores de pH están comprendidos en una escala de 0 a 14, el valor medio es 7.
- p) **Tópico:** medicamento o un tratamiento de uso externo y local, que se suministra, se aplica o se realiza sobre la zona del cuerpo afectada, como los ungüentos o pomadas.
- q) **Toxico:** Sustancia que es venenoso o que puede causar trastornos o la muerte a consecuencia de las lesiones debidas a un efecto químico.
- r) **Transdermico:** Fármaco pase a la circulación sistémica a través de la piel y no la actividad del fármaco en la propia piel.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1. Tipo y Nivel de Investigación

Tipo:

El presente estudio es de carácter aplicativo porque soluciona un problema de salud pública.

Nivel:

Explicativa porque tiene variables de causa – efecto explicando las características de cicatrización de heridas en un periodo de tiempo aplicando el gel directamente en las heridas.

3.2. Diseño de Investigación

Experimental – Longitudinal.

3.3. Población y Muestra

Sesenta ratas albinas de cepa holzman machos, con peso entre 220g +- 40 de seis a siete meses de edad, adquiridas en la Universidad Peruana Cayetano Heredia

Ratas albinas (rattus norvegicus)

TAXONOMÍA

Reino: Animalia

ORDEN: Rodentia

SUBORDEN: Myomorpha

FAMILIA: Muridae

GÉNERO: Rattus

ESPECIE: Norvegicus

Características:

Ratas exocriadas. Modelo general en investigación biomédica, muy utilizadas en toxicología.

La sociedad está cada vez más sensibilizada en materia de bienestar y protección animal por lo que, con el tiempo, se han tenido que mejorar e investigar en el campo de las alternativas. Los métodos alternativos, deben cumplir el “principio de las tres Rs”:

Reducción: Se debe reducir el número de animales mediante, por ejemplo, lotes de animales lo más homogéneos posibles, obteniendo el máximo de información de cada animal diseñando los experimentos de la forma más precisa posible.

Refinamiento: Se basa en aumentar al máximo el bienestar de los animales para así reducir el estrés y el dolor. Esto se consigue mediante procedimientos menos invasivos, con la menor duración posible o mejorando el acondicionamiento general del animal. Se debe tener en cuenta también el método de eutanasia de los animales. Este punto es importante ya que reduciendo el dolor y el estrés, conseguimos que el experimento se desarrolle de la forma más idónea, ya que estos causan cambios fisiológicos en los animales que pueden alterar los resultados finales del experimento.

Reemplazo: Hace referencia a sustitución de los animales vivos por otros métodos que usen, por ejemplo:

- ❖ Estudios anteriores
- ❖ Modelos informáticos ya sean matemáticos (cinética ambiental, fármaco-toxicocinética) o de realidad virtual
- ❖ Técnicas fisicoquímicas
- ❖ Organismos inferiores no protegidos o embriones de vertebrados
- ❖ Cultivos de células, tejidos y órganos
- ❖ Estudios en humanos voluntariosa (39)

MUESTRA:

Divididas en doce grupos, cada grupo conformada por cinco ratas.

3.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de DATOS

La técnica empleada en la presente investigación fue la de observación de tipo estructurada ya que nuestro estudio es de investigación concluyente de precisión y objetividad, no participante, colectivo llevado a cabo por ambos investigadores en el laboratorio

3.5. Descripción de Instrumentos

El instrumento fue una ficha de observación ad-hoc elaborada por los investigadores, tomando como referencia los indicadores de las variables para establecer los reactivos del instrumento. El instrumento en mención estuvo constituido por patrones abiertos y cerrado acorde a las características de los indicadores evaluando la efectividad en periodo de tiempo.

3.6. Validación de Instrumentos

El instrumento empleado fue viable por lo que se consideró económico, sencillo y simple en su estructura al poseer solo una cara para la recolección de datos de cada animal. En lo que se refiere a la sensibilidad al cambio, el instrumento definía claramente la evaluación según el tipo de tratamiento, poseendo capacidad discriminativa en los datos recolectados. En lo correspondiente a la confiabilidad no fue posible llevar a cabo la repetitividad ni el análisis de fiabilidad inter-examinador debido a las características longitudinales de la experimentación pero muestra repetibilidad en los resultados farmacológicos debido a que hay grupos diferentes de experimentación a diversas dosis y concentración. La validez total del instrumento se estableció a cuatro niveles; a nivel lógico los reactivos del instrumento se consideraron válidos ya que su construcción sigue una secuencia ordenada y una comprensión gramatical adecuada; la validez de contenido se obtuvo mediante la evaluación por juicio de 3 expertos, quienes fueron:

3.7. Técnicas de Procesamiento de Datos y Análisis Estadístico

Se procedió a organizar las fichas de recolección y enumerarlas para ser ingresadas a la base de datos en Microsoft Excel en su versión de acceso, bajo las modificaciones planteadas por el investigador.

3.8. Diseño Experimental: Muestras, Materiales, Equipos y Reactivos

3.8.1 Muestra biológica

- ❖ VARIABLE INDEPENDIENTE: Hojas de ortiga "*Urtica urens* L."
- ❖ VARIABLE INDEPENDIENTE: sábila – mucilago (parénquima) "*Aloe vera* L. Burn"
- ❖ VARIABLE DEPENDIENTE: Ratas albinas (*Rattus norvegicus*)

3.8.2. Material de Vidrio y otros

Material	Usos
Frasco ámbar	Para maceración de las muestras
Pipetas	Se utilizó en el Screening fitoquímico
Baguetas	Se usó en la prueba de solubilidad.
Embudo de vidrio	Para filtrar el macerado
Placas Petri	Para realizar el secado de la muestra líquida
Fiola	Para realizar diluciones
Vaso de precipitados	Para calentar en el Screening.
Tubos de ensayo	Para el Screening y otros.
Frascos estériles	Para guardar las muestras diluidas.
Capilares	Para realizar el sembrado
Costales	Para recolección de las plantas.
Navajas	Para cortar la sábila
Papel filtro	Para filtrar el macerado
Gasa	Para realizar el primer filtro.
Luna de reloj	Para realizar el secado en el Screening.
Soporte universal	Para preparar la fase móvil en el tamizaje.
Pera de bromo	Para realizar la mezcla de la fase móvil.
Papel kraft	Para conservar el materia fresca.
Tijeras	Para selección y cortar las hojas.
Mascarillas	Para el Screening y todo el proceso en lab.
Pipetas de plástico	Para cada reactivo.
Jeringa	Para extraer las muestras.
Matraz Erlenmeyer	Para las diluciones
Piceta	Para el lavado del material.

3.8.3. Equipos e Instrumentos

Equipos	Usos
Balanza analítica	Se realizó el peso de la materia prima, peso del extracto seco y peso de animales.
Rota vapor	Para eliminar el agua y alcohol del macerado.
Cocinilla eléctrica	Se usó en el Screening fitoquímico
Lámpara UV	Para observar la cromatografía realizada.
Cromatoplacas	Placas de silicagel para realizar el sembrado.
Espectrofotómetro	Para realizar la lectura de los flavonoides totales.
Campana de extracción	Para evitar los peligros de los solventes y reactivos de laboratorio.
Micrómetro digital	Para la medición en las diluciones.

Estufa	Para realizar el secado de las placas con muestras semisólidas.
Vernier digital.	Para la medición del tamaño de heridas
Equipo de disección.	Para realizar los cortes al animal.
Maquina depiladora.	Para realizar la depilación.

3.8.4. Reactivos

- ❖ Reactivo de Mayer
- ❖ Reactivo de Wagner
- ❖ Reactivo de Dragendorf
- ❖ Reactivo de ácido Fosfowolframio
- ❖ Reactivo de Sonneschein
- ❖ Reactivo de Reineckato
- ❖ Reactivo de Shinoda (magnesio + ácido clorhídrico concentrado)
- ❖ Reactivo de Cloruro Férrico
- ❖ Reactivo de gelatina al 1%
- ❖ Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger)
- ❖ Reactivo de Ninhidrina
- ❖ Reactivo de Fehling A
- ❖ Reactivo de Fehling B
- ❖ Reactivo de Lugol
- ❖ Reactivo 2,4 DNPH
- ❖ Alcohol de 96°C
- ❖ Metanol
- ❖ Etanol
- ❖ Cloroformo
- ❖ Agua destilada
- ❖ Isopropanol
- ❖ Reactivo de Tricloruro de Aluminio al 2%
- ❖ Acetato de sodio 1 M
- ❖ Reactivo Metanol : Agua (25:75)
- ❖ Reactivo BAW (al 10%)
- ❖ Ácido sulfúrico 2 N Butanol : Agua : AAG) (4:3:1)

❖ Hidróxido de sodio

3.9. Procedimientos Experimentales

La marcha Fitoquímica y ensayos preliminares se ejecutó en el laboratorio de especialidad de farmacognosia; de la Facultad de ciencias farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega. El estudio de actividad cicatrizante se realizó en bioterio certificado de la Universidad peruana Cayetano Heredia.

3.9.1. Recolección

3.9.1.1. Recolección de la Ortiga (*Urtica urens* L.)

La recolección se realizó el 10 de octubre del 2017 en el distrito de Palcamayo – Tarma a 3250msnm. Se envolvió en papel KRAFT y se trasladó hasta la ciudad de Lima para realizar la limpieza y seguidamente el secado.

3.9.1.2. Recolección de la Sábila (*Aloe vera* L. Burn)

La recolección se realizó el 12 de noviembre del 2017 en la ciudad de Canta – Lima a 180msnm. Se envolvió en papel KRAFT y se trasladó hasta la ciudad de Lima.

3.9.2. Obtención del Extracto Etanólico

3.9.2.1. Obtención del Extracto Etanólico de la Ortiga (*Urtica urens* L.)



Figura N° 8. Secado de la ortiga.

Fuente: Elaboración Propia.

Se lavó la planta con agua corriente se dejó secar en sombra para realizar la selección de las hojas frescas y sanas, se realizó la limpieza con agua destilada, se realizó la deshidratación al estado natural bajo sombra por un periodo de 7 días. Las hojas secas fueron pulverizadas de forma mecánica con un peso total de 750g.(muestra seca), luego fue envasado en un frasco de 4000mL de color ámbar , al frasco se añadió 3500mL de alcohol de 96°, se dejó macerar por 14 días con agitación cada 12 horas, protegidos de luz y calor. El macerado se filtró en papel filtro obteniendo 2000mL de muestra líquida, para eliminar el solvente se utilizó rota vapor, pasado tres horas se obtuvo un aproximado de 200 mL de concentrado de extracto. Se depositó en una placa Petri y otra parte en luna de reloj, luego se colocó en la estufa eléctrica a 40 °C, hasta obtener el extracto seco, obteniendo 35g de muestra seca, se colocó en un recipiente bien cerrado,

protegido de la luz y el calor, se guardó en el refrigerador a 5 °C para su conservación y posterior utilización.

3.9.2.2. Obtención del Extracto Etanólico de la Sábila (*Aloe vera* L. Burn)

Se realizó el lavado de las pencas de sábila, se sumergió en un recipiente con agua destilada por 24 horas, al tercer día se refilo todo el contorno así como las espina y se trozo en segmentos de 20cm, de cada trozo se retiró el parénquima (mucilago), obteniendo 2 litros y se colocó en un recipiente, se procedió a licuar 800mL. Con 200mL. De alcohol de 96°, se macero en frasco ámbar por 7 días se filtró con papel filtro obteniendo 850mL. Se llevó a la estufa con temperatura de 60°C por 3 días, obteniendo 200mL de extracto.

3.9.3. Marcha de Solubilidad

3.9.3.1. Solubilidad de la Ortiga (*Urtica urens* L.)



Figura 9. Prueba de Solubilidad.

Fuente: Elaboración Propia.

Para la prueba de Solubilidad tenemos que contar con el extracto seco del extracto de las hojas de *Urtica urens* “Ortiga” y el mucilago de *Aloe vera* “Sábila”, tomamos una pequeña cantidad de la muestra y es colocada en los tubos de ensayo para luego

verter unos 3 a 5 mL de los solventes como (Metanol, Etanol, Agua, Cloroformo, Alcohol de 96° y Isopropanol) esta prueba nos da referencia en que solventes es más soluble la muestra a tratar.

Se trabajó en forma ordenada los tubos:

Tubo N° 01: Cloroformo

Tubo N° 02: Isopropanol

Tubo N° 03: Alcohol 96°

Tubo N° 04: Etanol

Tubo N° 05: Metanol

Tubo N° 06: Agua

Tenemos que tener en cuenta la Polaridad del disolvente por que este le da propiedades de solubilización en diferentes solutos.

3.9.4. Tamizaje Fitoquímico

Para las pruebas de Screening fitoquímico o tamizaje fitoquímico tenemos que tener en cuenta que son de coloración y/o precipitación, los reactivos son vertidos en gotas a las muestras que se encontraran en tubos de ensayo dentro de una gradilla apropiada.

Se harán pruebas para metabolitos secundarios y primarios.

3.9.4.1. Tamizaje de la Ortiga (*Urtica urens* L.) y de la Sábila (*Aloe vera* L. Burn)

Metabolitos Secundarios

A. Prueba para Alcaloides:

Se hacen ensayos generales con los reactivos de Mayer, Wagner, Dragendorf, ácido fosfowolframio, Sonneschein y Reineckato para las muestras de “Ortiga” y “Sábila”, cabe mencionar que se considera que la muestra en análisis tiene alcaloides cuando es positivo en por lo menos en tres reactivos de los ya citados.

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.

Reactivo de Wagner

(yodo-yoduro de potasio), da una coloración marrón cuando se agrega de 3 a 5 gotas.

Reactivo de Dragendorf

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

Reactivo de Scheibler

(Ácido fosfortungstico), da una coloración blanca cuando se agrega de 3 a 5 gotas.

Reactivo de Sonneschein

(Ácido fosfomolibdico), da una coloración naranja cuando se agrega de 3 a 5 gotas.

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 color rosa cuando se agrega de 3 a 5 gotas.

B. Prueba para Flavonoides y Compuestos Fenólicos:

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

Cabe citar que este grupo de metabolitos por su estructura contiene a las antraquinonas y naftoquinonas; la prueba de

gelatina al 1% es para taninos que ya sea que sea condensado es un flavonoide llamado antocianidina 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 rojo a magenta (flavanonoles), si son coloraciones rojo, violeta o azul (flavanonas), si son amarillos (isoflavonas), si esta no presenta coloración pueden ser isoflavononas, chalconas y auronas.

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.

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.

C. Prueba para Cumarinas:

Las cumarinas están biogénicamente relacionadas como flavonoides ya que su biosíntesis es por la vía shikimato.

Para la identificación se hace la prueba de cumarinas volátiles; que consta de añadir 1 mL de etanol a la muestra en el tubo de ensayo y cerramos el tubo con papel filtro bien ajustado seguidamente embebemos con hidróxido de sodio al

10% y colocamos a baño maría, después el papel filtro es visto a luz uv 254, será positivo para cumarinas volátiles si presenta un azul brillante.

D. Prueba para Antraquinonas:

Esta es una prueba específica para antraquinonas, se le añade 5 mL de cloroformo a la muestra se agita vigorosamente para luego decantar, después se añade 5 gotas de hidróxido de sodio al 5% (reacción de Bortranger), se formaran dos fases si esta presenta coloración roja es positivo para antraquinonas.

Metabolitos Primarios

A. Prueba para Glúcidos:

Reactivo de Fehling A y B

A la muestra se 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.

B. Prueba para Almidón:

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.

C. Prueba para Cetonas:

Reactivo de 2,4 Dinitrofenilhidrazina (DNPH)

A la muestra se le añade 1 gotas de DNPH si presenta un precipitado amarillo o naranja rojizo nos da la presencia de cetonas en la muestra.



Figura N° 10. Realizando Tamizaje Fitoquímico.

Fuente: Elaboración Propia.

3.9.5. Prueba de 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.

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.

3.9.5.1. Cromatografía en Capa Fina – Alcaloides

Para la prueba de cromatografía en capa fina para alcaloides se usó una placa cromatografica 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 comparación se usó un estándar de Cafeína en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 μl , caso similar con la muestra de *Urtica urens* “Ortiga” y el mucilago de *Aloe vera* “Sábila”.

Una vez terminada la corrida se seca la placa en la 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 rocío ácido sulfúrico al 2 % y luego el reactivo de Dragendorf, como revelador, para una evidencia positiva se tiene que ver manchas naranjas. Las muestras en análisis como son “Ortiga” y “Sábila” dieron positivos para alcaloides.

3.9.5.2. Cromatografía en Capa Fina - Flavonoides

Para la prueba de cromatografía en capa fina para flavonoides se usó una placa cromatografica 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 y Rutina en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 µl a la placa cromatografica, caso similar con la muestra de *Urtica urens* “Ortiga” y el mucilago de *Aloe vera* “Sábila”.

Una vez terminada la corrida 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 “Ortiga” y “Sábila” dieron positivo para flavonoides.

3.9.5.3. Cromatografía en Capa Fina - Antraquinonas

Para la prueba de cromatografía en capa fina para antraquinonas se usó una placa cromatografica de la marca Merck (TLC Silica gel F₂₅₄) como fase estacionaria, para nuestro solvente de elución

fue Cloroformo - Metanol en proporción de (99:1) respectivamente, también se usó una jeringa en μL .

Para la comparación se usó un estándar de Cochinilla en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 μL a la placa cromatográfica, caso similar con la muestra de *Aloe vera* "Sábila".

Una vez terminada la corrida la muestra es secada para luego ser rociada con el revelador de Bortranger (hidróxido de sodio al 5%), la evidencia de manchas rojas o rasadas da la evidencia de antraquinonas.

La muestra de "Sábila" evidenció poco color rojo, cabe resaltar que el reactivo de hidróxido de sodio es muy corrosivo en la placa.

3.9.6. Prueba de Espectrofotometría en el UV-VIS para la Cuantificación Total de Flavonoides

Para la realización de la prueba se usó el método de flavonoides totales que parte a partir de una concentración de 1 mg/mL de estándar Quercetina (solución madre) de esta solución se hace diluciones para tener concentraciones de 0.024, 0.1 y 0.2 mg/mL todo disuelto en etanol.

Una vez obtenidas las tres concentraciones a cada una se toma una alícuota de 2 mL y es depositada en tubos nessler de capacidad para 50 mL, acto seguido se le adiciona 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 final.

Para las muestra de *Urtica urens* "Ortiga" y el mucilago de *Aloe vera* "Sábila", se toma una alícuota de 0.5 mL y se adiciona 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 final.

Tanto los estándares como las muestras son incubados por 30 minutos para luego ser leídas el espectrofotómetro UV-VIS a 415 nm de longitud.

Se obtuvo 2.95 mg de Quercetina / mL del extracto de las hojas de “Ortiga” y 0.07 mg de Quercetina / mL del extracto del mucilago de “Sábila”; es decir que los flavonoides totales se expresan en miligramos equivalentes de Quercetina por mililitros de extracto.

3.9.7. Elaboración del Gel

Excipientes

❖ CARBÓMERO 940	1 %
❖ METIL PARABENO	0.2 %
❖ AGUA DEST CSP	100.00 %

Técnica operativa

En un beaker disolver 1 g de Carbómero en 100 mL. De agua destilada, poner a calentar, agitar con bagueta hasta disolución total y luego agregar el Metilparabeno. Luego, pesar las cantidades indicadas de los extractos (tabla de Excel) y completar hasta 30 g. de gel base c/u.

Tabla N° 1: Formulación de las concentraciones del gel al 30% para su Uso

FORMULACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DEL GEL al 30% PARA USO					
	ORTIGA	SÁBILA	EXCIPIENTES	GEL PESO TOTAL 30g.	
FORMULA 1	20% 6g.	10% 3g.	21g.	30g.	
FORMULA 2	15% 4.5g.	15% 4.5g.	21g.	30g.	
FORMULA 3	10% 3g.	20% 6g.	21g.	30g.	

SE PREPARARÁ EN ENVASES IGUALES ROTULADOS.

3.9.8. Parámetros que debemos tener en cuenta para la Calidad de Un gel

- 1) Limpieza y sanitación del área de trabajo y equipo.
- 2) Requisición de material y equipo.
- 3) Pesar la materia prima sólida de carbopol 940.
- 4) Pesar los líquidos y materia prima: propilenglicol, extracto seco de ortiga y sábila, trietanolamina 2.0 g, agua desionizada.
- 5) Espolvorear por medio de un tamiz tener siempre en cuenta los tiempos de disolución y dejar reposar para encontrar consistencia.
- 6) Realizar controles en proceso.
- 7) Envasar y etiquetar.
- 8) Realizar controles en producto terminado.
- 9) Almacenar.

3.9.9. Evaluación de Actividad Cicatrizante (Método de Incisión de Heridas en el Dorso)

FUNDAMENTO:

Se basa en un método usado en la actualidad, escisión de heridas, para ello se trabaja con máquinas eléctricas para la depilación calibradas y certificadas, ya que la emisión de onda en mayor proporción puede dañar tejidos vecinos del área a tratar e interrumpir significativamente el resultado de la respuesta tisular. Una vez realizada la depilación se deja en descanso al animal a temperatura, humedad y comida adecuada para desestresarlo y que la zona depilada no sufra irritación, pasado las 24 horas se realiza las incisiones con mediciones en cm. con un vernier calibrado, y la aplicación del gel a diferentes concentraciones.

Las ratas se mantuvieron en un ambiente adecuado con ciclo artificial de noche-día, alimentadas ad libitum con alimento especial para roedores. El día del procedimiento, la rata fue anestesiada con ketamina (100 mg/kg, intramuscular) y xylacina (13 mg/kg, intramuscular). Una vez anestesiada, se colocó en posición supina ventral para realizar tricotomía con rasurador eléctrico. (40)

3.9.10. Prueba de Toxicidad Aguda Dermal y Ensayo de la Actividad Cicatrizante en Heridas incisas en ratas

Se desarrolló en el presente estudio la evaluación de la Toxicidad Aguda Dermal en ratas, en donde se evaluó si el extracto en estudio en sus diferentes porcentajes y concentraciones de aplicación causa mortalidad por la vía dermal en ratas durante las primeras 72 horas hasta los 14 días de observación.

Además, se determinó el efecto cicatrizante ante la generación de heridas incisas en ratas evaluando las áreas de cierre, frente a un tratamiento de 28 días, en aplicaciones diarias. La aplicación de la muestra se realizó tópicamente por la vía dermal. La medición del

área de cierre de las heridas producidas se realizó al inicio del corte, a los 7, 14, 21 y 28 días. Al final del ensayo se analizaron estadísticamente el promedio de todas las áreas de cierre medidas.

Los extractos A y C presentan Actividad Cicatrizante en el modelo estudiado con los volúmenes de aplicación de 0.5, 0.25 y 0.125ml, mientras el B, solo a 0.5 y 0.25 ml.

3.9.11. Ambiente de Experimentación

El ensayo se desarrolló en el Ambiente de Experimentación de Ratas del Laboratorio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

El ambiente cumple con las condiciones ambientales requeridas para los ensayos con ratas según la Guía de Bienestar Animal.

Los parámetros ambientales registrados en el área donde se desarrolló la prueba corresponden a los siguientes:

Temperatura (°C): 21.5

Humedad (%): 64%

Luz, Oscuridad: 12L: 12°



Figura N° 11. Bioterio con animales de experimentación.

Fuente: Elaboración Propia.

3.9.12. Animales de Experimentación

Se usaron ratas albinas machos, cepa Holtzman, de 2 meses de edad, provenientes del Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, certificados del buen estado sanitario en que se encuentran. Estos tenían un peso promedio entre 220-240g. Los animales fueron distribuidos en grupos de experimentación de la siguiente forma:

- ❖ Para la prueba de toxicidad aguda dermal: 5 animales por cada muestra en un volumen de aplicación de 1 ml, en dosis única.
- ❖ Para la determinación del efecto cicatrizante: 3 grupos de 15 animales cada uno, adicionalmente 2 grupos de controles de 5 animales cada uno. Un total de 60.

A la llegada de los animales, estos pasaron por un proceso de cuarentena por 5 días, o de aclimatación, en donde se adaptan a las condiciones ambientales, para que no tengan alteraciones fisiológicas y conductuales.



Figura 12. Animales en la última semana de tratamiento.

Fuente: Elaboración Propia.

3.10. Diseño Experimental

3.10.1. Toxicidad Aguda Dermal

Está basado en la Guía OECD Test 402: Acute Dermal Toxicity. Para iniciar el ensayo, los animales son depilados 24 horas antes. Esto se realiza usando una rasuradora eléctrica, quitando el pelo del lomo del animal. Este tiempo sirve para que la piel no este alterada y sin problemas de irritación. La prueba incluyó un tratamiento por cada muestra (A, B y C), con un volumen máximo de aplicación de 1 ml, en dosis única. Se observó si hubo mortalidad durante las 72 horas, hasta los 14 días de observación. Se observó además si se presentaron efectos adversos o signos de toxicidad. Los grupos de tratamiento se detallan en la siguiente:

Tabla N° 1. Tratamiento de la experimentación

GRUPO	Dosis (ml)	N° de animales machos	Peso (g)
A	1	5	225.70
B	1	5	234.70
C	1	5	235.62
Control	Agua destilada	5	221.05

3.10.2. Determinación de la Actividad Cicatrizante en Ratas con el Modelo de Heridas Incisas

Ya depilados los animales son distribuidos según los niveles de concentración.

El día del ensayo los animales fueron anestesiados con una asociación de dos fármacos Ketamina (40 mg/kg) y Xylacina (15mg/kg), previo y durante la realización de las escisiones bajo óptimas condiciones de asepsia.

Antes del inicio del ensayo, los animales son depilados 24 horas antes. Son depilados en el lomo usando una rasuradora eléctrica, dejando la piel expuesta para la aplicación de las muestras. Los animales esperan este tiempo para que la piel repose y no presente ninguna alteración a nivel dermal (irritación, eritema, edema).

Cuando los animales son anestesiados se realizan las escisiones en el dorso de cada uno de ellos, siguiendo el método descrito por Nayak y col, 2005 (publicación validada en el PubMed). Luego se marcó el área de la escisión de aproximadamente 2cm². (1X1). Se procedió a la ejecución de los cortes tanto superiores como inferiores, con una cuchilla de bisturí de acero inoxidable y tijeras estériles en cada lomo del animal, con una profundidad de aproximadamente 0.2 cm (nivel subcutáneo).

Luego de la generación de heridas, se empezó el tratamiento con la aplicación diaria de las muestras en sus diferentes concentraciones y volúmenes de aplicación sobre las heridas

expuestas. Los volúmenes se asociaron a las dosificaciones del tratamiento, que en este caso fueron de 0.5, 0.25 y 0.125 ml. De acuerdo a los grupos formados para el ensayo se aplicaron los tratamientos tópicamente por un periodo de 28 días.

La medición de las áreas de cierre de las heridas, se realizaron a los 0, 7, 14, 21 y 28 días posteriores a la escisión sobre la piel de las ratas.

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:

Tabla N° 2. Grupos de experimentación de animales

Grupo	Animales	Dosis (Vol. de aplicación)
Control negativo	5	-
Control positivo (Cicatrin)	5	0.5 ml
A	15	0.5, 0.25, 0.125 ml
B	15	0.5, 0.25, 0.125 ml
C	15	0.5, 0.25, 0.125 ml

Fuente: Elaboración Propia

3.10.3. Pasos durante el procedimiento de anestesiar a los animales De experimentación

Pesado de los animales para su correcta dosificación.

- A. Preparar las dosis a usar según los pesos corporales para la administración.
- B. Las dosis a usar en ratas son de Ketamina (40 mg/kg) y Xylacina (15mg/kg).

- C. Asegurar la correcta administración, ejercer una presión negativa sobre el embolo de la jeringa para descartar la salida de sangre, contenido intestinal, etc. En este caso la vía de administración es la intraperitoneal.
- D. La administración se realizó en la cavidad abdominal lateral a la línea media.
- E. La duración del efecto es de aproximadamente de 30 a 120 minutos.

3.10.4. Distribución de la muestra

Para el ensayo se utilizan 60 ratas albinos machos (Cepa Balb/c) de seis a ocho semanas de edad con peso promedio de 220 ± 40 g; adquiridas en la universidad Peruana Cayetano Heredia las cuales fueron mantenidas en condiciones normales de humedad y temperatura en el laboratorio de control de calidad de la Universidad Peruano Cayetano Heredia, proporcionándoles alimento y agua. Se distribuyeron en forma aleatoria en número de 5 ratas por cada tratamiento, (12 grupos X 5 ratas cada grupo). Los grupos recibieron el tratamiento de diferentes concentraciones y dosis del gel como se detallara en el proceso.

3.10.5. Ensayo Preliminar

Al realizar el ensayo preliminar, para determinar la técnica de aplicación, para saber cuántas personas se requiere para la manipulación de las ratas al momento del tratamiento, y calcular el tiempo para las respectivas mediciones en el experimento, se utilizó 7 ratas adicionales, a cada una de las ratas se aplicó el tratamiento indicado para cada grupo. (Se realizó 2 días anteriores al experimento de la investigación.)

c.- Procedimiento: 1. Se agruparon las ratas albinas en 12 grupos, cada grupo con 5 ratas.

Tabla N° 3. Concentración y dosis por cada grupo de experimentación

GRUPOS DE ANIMALES		CONCENTRACIÓN DE GEL POR GRUPO				DOSIS	
GRUPO I		CONTROL NEGATIVO (AGUA DESTILADA)				HASTA CUBRIR LA HERIDA	
GRUPO II		CONTROL POSITIVO (CICATRIN)				HASTA CUBRIR LA HERIDA	
GRUPO III		GEL CON EXTRACTO 20% ORTIGA Y 10% SABILA				0.5mL. De gel	
GRUPO IV		GEL CON EXTRACTO 20% ORTIGA Y 10% SABILA				0.25mL. De gel	
GRUPO V		GEL CON EXTRACTO 20% ORTIGA Y 10% SABILA				0.125mL. De gel	
GRUPO VI		GEL CON EXTRACTO 15% ORTIGA Y 15% SABILA				0.5mL. De gel	
GRUPO VII		GEL CON EXTRACTO 15% ORTIGA Y 15% SABILA				0.25mL. De gel	
GRUPO VIII		GEL CON EXTRACTO 15% ORTIGA Y 15% SABILA				0.125mL. De gel	
GRUPO IX		GEL CON EXTRACTO 10% ORTUGA Y 20% SABILA				0.5mL. De gel	
GRUPO X		GEL CON EXTRACTO 10% ORTUGA Y 20% SABILA				0.25mL. De gel	
GRUPO XI		GEL CON EXTRACTO 10% ORTUGA Y 20% SABILA				0.125mL. De gel	
GRUPO XII		TOXICIDAD AGUDA DERMAL (TAD)				1mL. Por concentración	

Fuente: Elaboración propia

3.11. Evaluación histológica

3.11.1. Generalidades

En la observación de la evolución de las cicatrices experimentales, se realizaron cortes histológicos, estos se preparan cortando una porción de fragmento de tejido fijado, que después es teñido, y se monta en un medio con índice de refracción adecuado sobre un portaobjetos y finalmente se cubre con un cubreobjetos.

La tinción empleada es la de hematoxilina eosina, la que es conocida como H y E. La hematoxilina es una base que brinda un tinte azulado a los componentes ácidos de la célula, como el DNA y RNA, el núcleo y ciertas regiones del citoplasma se tiñen de

color azul oscuro. La eosina es un ácido que da una coloración rosada a los componentes básicos de la célula, como los componentes citoplasmáticos tienen pH básico, las regiones del citoplasma se tiñen de color rosado.

3.11.2. Materiales y reactivos

- a) Tejidos con cicatrizaciones experimentales (muestras obtenidas inmediatamente a la muerte de los animales).
- b) Microscopio con cámara y conexión a PC.
- c) Micrótopo con cuchillas de acero.
- d) Formol (4%), agua destilada, parafina, xilol; mezcla de colorantes hematoxilina-eosina para histología, albumina, glicerina.
- e) Laminas portaobjetos y cubreobjetos, pinzas y otros.



Figura N° 13. Preparación de las muestras histopatológicas

Fuente: Elaboración Propia.

3.11.3. Histología de los tejidos (preparación tisular)

Las muestras de tejido con cicatrices experimentales se obtuvieron inmediatamente de la muerte de los animales, y se secciona un área de 2 x 2 cm. Estos fueron colocados en papel filtro para evitar el enrollamiento natural del tejido separado, y se depositan en una solución de formol neutro al 4%, para lograr la **Fijación** que conserva una imagen del tejido, que es como si estuviera vivo, luego

Deshidratación, con soluciones de concentraciones crecientes de etanol, luego

Aclaramiento del tejido (se vuelve transparente) con xilol, luego para hacer los cortes se realiza la

Infiltración o inclusión en parafina, donde se forma un bloque sólido, luego viene

Corte, que se realiza en un micrótomo, luego el

Montaje, que se realiza en una lámina portaobjetos y es cubierta con un material adherente (albumina de huevo). Posteriormente se retira la parafina restante con xileno, luego se realiza la

Tinción, en este caso es con hematoxilina – eosina, y finalmente

Rehidratación, con soluciones decrecientes de etanol que faciliten la fijación con el medio que se utilice en el montaje, para cubrirlo con un cubreobjetos y sellarlo.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Resultados de la Identificación de Metabolitos Secundarios

4.1.1 Resultados de la Prueba de Solubilidad

Muestra del extracto seco de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto semisólido de sábila (*Aloe vera* L. Burn)

Tabla N° 4. Resultado de la prueba de solubilidad

T

RESULTADO DE LA PRUEBA SOLUBILIDAD		
Solventes	Resultado para "Ortiga"	Resultado para "Sábila"
Cloroformo	(+++)	(-)
Isopropanol	(+)	(++)
Alcohol 96°	(+++)	(-)
Etanol	(+++)	(-)
Metanol	(+++)	(-)
Agua	(-)	(+++)

Fuente. Elaboración propia.

Donde:

- (-) La solubilidad no se visualiza
- (+) La solubilidad en menor grado
- (++) La solubilidad es moderada
- (+++) La solubilidad es mayor

4.1.2 Resultados del Screening Fitoquímico

Tabla N° 5. Resultado de la Identificación de Metabolitos Secundarios.

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS			
Metabolitos secundarios	Reactivo de identificación	Resultado para "Ortiga"	Resultado para "Sábila"
Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco (-)	Precipitado blanco (-)
	Wagner	Precipitado marrón (++)	Precipitado marrón (+++)
	Dragendorf	Precipitado rojo o naranja (+++)	Precipitado rojo o naranja (+++)
	Scheibler	Precipitado o Color blanco (+)	Precipitado o Color blanco (+++)
	Sonneschein	Precipitado naranja (-)	Precipitado naranja (-)
	Reineckato	Color rosa (-)	Color rosa (+++)
Compuestos fenólicos y Flavonoides	Shinoda	Color rojo (+++)	Color rojo (-)
	Cloruro férrico	Color verde (+++)	Color verde (++)
	Gelatina al 1%	Precipitado blanco (++)	Precipitado blanco (++)
	Reacción de Bortranger	Color rojo (-)	Color rojo (+)
Aminoácidos	Ninhidrina	Color rosado (+++)	Color rosado (-)
Cumarinas	Hidróxido de sodio al 10%	Azul brillante al UV 254 (-)	Azul brillante al UV 254 (-)
Antraquinonas	Reacción de Bortranger	Color rojo (-)	Color rojo (+)

FUENTE: Elaboración propia.

Donde:

(-) 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

4.1.3 Resultado Identificación de Metabolitos Primarios

Tabla N° 6. Resultado de identificación de metabolitos primarios.

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS			
Metabolitos Primarios	Reactivo de identificación	Resultado para “Ortiga”	Resultado para “Sábila”
Glúcidos	Fehling A y B	Precipitado anaranjado ladrillo (++)	Precipitado anaranjado ladrillo (+++)
Almidón	Lugol	Coloración oscura (+)	Coloración oscura (+++)
Cetonas	2,4 DNPH	Precipitado amarillo o naranja rojizo (+++)	Precipitado amarillo o naranja rojizo (+++)

Fuente: Elaboración propia.

4.1.4 Resultados de la Lectura al Espectrofotómetro

4.1.4.1. Ortiga

COPIA CONTROLADA

Firma: _____ Fecha: 2016-01-11
SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD
ÁREA DE ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS
 REPORTE DE CONTENIDO POR ESPECTROFOTOMETRÍA Uv- Vis

Código y Versión: FQ-FR-035.00
 Fecha de Emisión: 2016-01-11
 Página 1 de 1

DATOS DEL PRODUCTO:
 Nombre: EXTRACTO DE LAS HOJAS DE ORTIGA
 Presentación: Muestra Líquida
 Lote: -----
 Código SCC-UPCH: -----
 Fabricante: -----
 Fecha de Vencimiento: S/P
 Norma Técnica: Técnica Interna SCC-UPCH
 Fecha de análisis: 2017-12-04

SISTEMA ESPECTROFOTOMETRICO:
 Equipo: ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS
 Longitud de onda: 415 nm
 Código: EQ-FQ-32

DATOS DEL ESTÁNDAR:
 Nombre: QUERCITINA
 LOTE: A104792 812
 Potencia: 100,0 % T/C
 Peso molecular en forma de Sal: -
 Peso molecular en forma de Base: -
 Peso: 100,0 mg
 Diluciones de la curva:
 24 ug/mL Vol. dilución 1: 1,2 mL Vol. enrase 1: 50 mL
 100 ug/mL Vol. dilución 1: 5 mL Vol. enrase 1: 50 mL
 200 ug/mL Vol. dilución 1: 10 mL Vol. enrase 1: 50 mL

mg/mL	Factor de correccion	(mg/mL) Corregido	Absorbancia
0,02400	1	0,02400	0,14092
0,02400	1	0,02400	0,14166
0,02400	1	0,02400	0,14156
0,10000	1	0,10000	0,60849
0,10000	1	0,10000	0,60907
0,10000	1	0,10000	0,60894
0,20000	1	0,20000	1,23710
0,20000	1	0,20000	1,23690
0,20000	1	0,20000	1,23660

ECUACIÓN DE LA RECTA: $Y = 6.2272 x - 0.0102$
 a: -0.0102
 b: 6.2272

DATOS DE LA MUESTRA
 Peso o volumen de muestra: 0,50 (mL) Volumen de enrase: 20 (mL)

CÁLCULOS:

MUESTRA	ABSORBANCIA		
MUESTRA A1	0,46946	0,46922	0,46914

MUESTRA	mg/ mL	RSD	PROMEDIO	
MUESTRA	2,9501	2,9486	0,0363	2,95

RESULTADOS: 2.95 mg de Quercitina/ mL de extracto
 ESPECIFICACIONES/ OBSERVACIONES: Los Flavonoides Totales se expresan en mg equivalentes de Quercitina /mL de extracto
 CONCLUSIÓN: -----

E.OLIVAR
ANALISTA


2017-12-04
FECHA DE REPORTE

Figura N° 14. Resultado de cuantificación de flavonoides totales de la ortiga

4.1.4.2. Sábila

COPIA CONTROLADA

Firma: _____ Fecha: 2016-01-11

	SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD	Código y Versión: FQ-FR-035.00
	ÁREA DE ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS	Fecha de Emisión: 2016-01-11
	REPORTE DE CONTENIDO POR ESPECTROFOTOMETRÍA Uv- Vis	Página 1 de 1

DATOS DEL PRODUCTO:

Nombre: <u>EXTRACTO DEL MUCILAGO DE SABILA</u>	Fabricante: <u>-----</u>
Presentación: <u>Muestra Líquida</u>	Fecha de Vencimiento: <u>S/F</u>
Lote: <u>-----</u>	Norma Técnica: <u>Técnica Interna SCC-UPCH</u>
Código SCC-UPCH: <u>-----</u>	Fecha de análisis: <u>2017-12-04</u>

SISTEMA ESPECTROFOTOMETRICO:

Equipo: <u>ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS</u>	Código: <u>EQ-FQ-32</u>
Longitud de onda: <u>415 nm</u>	


DATOS DEL ESTÁNDAR:

Nombre: <u>QUERCITINA</u>	Primario: <input checked="" type="checkbox"/>	Secundario: <input type="checkbox"/>	Working Std: <input type="checkbox"/>
LOTE: <u>A104792 812</u>		Fecha de Vencimiento: <u>-----</u>	
Potencia: <u>100,0</u> % T/C		Código: <u>---</u>	
Peso molecular en forma de Sal: <u>-</u>		Humedad: <u>---</u> %	
Peso molecular en forma de Base: <u>-</u>		Volumen enrase: <u>100</u> mL	
Peso: <u>100,0</u> mg			

Diluciones de la curva:

24 ug /mL	Vol. dilución 1: <u>1,2</u> mL	100 ug /mL	Vol. dilución 1: <u>5</u> mL	200 ug /mL	Vol. dilución 1: <u>10</u> mL
	Vol. enrase 1: <u>50</u> mL		Vol. enrase 1: <u>50</u> mL		Vol. enrase 1: <u>50</u> mL

mg/mL	Factor de correccion	(mg/mL) Corregido	Absorbancia
0,02400	1	0,02400	0,14092
0,02400	1	0,02400	0,14166
0,02400	1	0,02400	0,14156
0,10000	1	0,10000	0,60849
0,10000	1	0,10000	0,60907
0,10000	1	0,10000	0,60894
0,20000	1	0,20000	1,23710
0,20000	1	0,20000	1,23690
0,20000	1	0,20000	1,23660



ECUACIÓN DE LA RECTA: $y = ax \pm b$

$Y = 6.2272 x - 0.0102$

a: -0,0102
b: 6,2272

DATOS DE LA MUESTRA

Peso o volumen de muestra: <u>0,50</u> (mL)	Volumen de enrase: <u>20</u> (mL)
---	-----------------------------------

CÁLCULOS:

MUESTRA	ABSORBANCIA	
MUESTRA A1	0,02094	0,02255

MUESTRA	mg / mL	RSD	PROMEDIO
MUESTRA	0,0691	0,0751	0,0751

RESULTADOS: 0.07 mg de Quercitina/ mL de extracto

ESPECIFICACIONES/ OBSERVACIONES: Los Flavonoides Totales se expresan en mg equivalentes de Quercitina /mL de extracto

CONCLUSIÓN: -----

<u>E.OLIVAR</u> ANALISTA	2017-12-04 FECHA DE REPORTE
-----------------------------	--------------------------------

Figura 15. Cuantificación de flavonoides totales de la sábila.

4.1.5 Procesamiento de Datos: Resultados

4.1.5.1. Tratamiento Estadístico de las Muestras A, B y C con aplicación de 0,5 ML.

Tabla N° 7. Resultado promedio estadístico de las Muestras A, B y C con Aplicación de 0.5 mL.

0.5 A	0.5 B	0.5 C	c+	c-
0.1085	0.216	0.0528	0.0063	0.6723
0.0756	0.1599	0.0483	0.0056	0.7395
0.0837	0.1554	0.0528	0.0042	0.714
0.07	0.1482	0.0399	0.0072	0.6723
0.0528	0.1554	0.0342	0.0056	0.7224
0.0781	0.1670	0.0456	0.0058	0.7041

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	5	0.3906	0.07812	0.0004
Columna 2	5	0.8349	0.16698	0.0008
Columna 3	5	0.228	0.0456	7E-05
Columna 4	5	0.0289	0.00578	1E-06
Columna 5	5	3.5205	0.7041	0.0009

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.65811283	4	0.414528207	949.85	0.00	2.86608140
Dentro de los grupos	0.008728244	20	0.000436412			
Total	1.666841074	24				

PRUEBA DE HIPÓTESIS:

H₀ = No existen diferencias significativas entre las medias de todos los grupos (P>0.05)

Ha = Existen diferencias significativas entre las medias de todos los grupos (P<0.05)

Criterio de aceptación:

Como el nivel de significancia usado es de 0.05 y p hallado es menor a ese valor rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna, por lo tanto las medias de todos los grupos son diferentes y se procede a realizar la prueba de Dunnet, para comparaciones múltiples con el control negativo

Estadístico Dunnet

$$|\bar{x}_j - \bar{x}_0| > t_d \sqrt{2MSW/n}$$

Xi -X0	>	0.04459
0.5A-C- =	0.6260	> 0.045
0.5B-C- =	0.5371	> 0.045
0.5C - C- =	0.6585	> 0.045
C+ - C- =	0.6983	> 0.045

Prueba de hipótesis:

H₀ = $\mu_i = \mu_0$ i= 1, 2, 3 y 4
H_a = $\mu_1 \neq \mu_0$ μ_0 = media del control negativo

Criterio de aceptación:

Como, todos los datos hallados son mayores que el de Dunnet, se concluye que todos los grupos difieren significativamente del control negativo utilizado y que presentan mejor cierre de la herida con respecto al control negativo.

Conclusión:

A, B y C al volumen de aplicación de 0.5 mL, presentan efecto cicatrizante disminuyendo el área de cierre de las heridas

4.1.5.2. Tratamiento Estadístico de las Muestras A, B y C con aplicación de 0,25 ML.

Tabla N° 8. Resultado promedio de las Muestras A, B y C con aplicación de 0.25 mL.

0.25 A	0.25 B	0.25 C	c+	c-
0.2016	0.3422	0.1085	0.0063	0.6723
0.1978	0.2499	0.1221	0.0056	0.7395
0.2058	0.2646	0.144	0.0042	0.714
0.235	0.33	0.1326	0.0072	0.6723
0.2244	0.2646	0.14	0.0056	0.7224
0.21292	0.29026	0.12944	0.00578	0.7041

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0.25 A	5	1.0646	0.21292	0.0002567
0.25 B	5	1.4513	0.29026	0.0018057
0.25 C	5	0.6472	0.12944	0.0002065
c+	5	0.0289	0.00578	1.212E-06
c-	5	3.5205	0.7041	0.0009271

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	de Grados libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor para F
Entre grupos	1.40834738	4	0.352086845	550.62	0.00	2.87
Dentro de los grupos	0.01278884	20	0.000639442			
Total	1.42113622	24				

Prueba de hipótesis:

H0 = No existen diferencias significativas entre las medias de todos los grupos (P>0.05)

Ha = Existen diferencias significativas entre las medias de todos los grupos (P<0.05)

Criterio de aceptación:

Basado en el nivel de significancia usado es de 0.05 y p hallado es menor a ese valor rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna, por lo tanto las medias de todos los grupos son diferentes y se procede a realizar la prueba de Dunnet, para comparaciones múltiples con el control negativo

Estadístico Dunnet $|\bar{x}_j - \bar{x}_0| > t_{\alpha} \sqrt{2MSW/n}$

	$ X_i - X_0 $	>	0.05398
0.25A - C-	0.4912	>	0.05398
0.25B - C-	0.4138	>	0.05398
0.25C - C-	0.5747	>	0.05398
C+ - C-	0.6983	>	0.05398

Prueba de hipótesis:

H0 = $\mu_i = \mu_0$ i= 1, 2, 3 y 4

Ha = $\mu_1 \neq \mu_0$ μ_0 = media del control negativo

Criterio de aceptación:

Como todos los datos hallados son mayores que el de Dunnet, se concluye que todos los grupos difieren significativamente del control negativo utilizado y que presentan mejor cierre de la herida con respecto al control negativo.

Conclusión:

A, B y C al volumen de aplicación de 0.25 mL, presentan efecto cicatrizante disminuyendo el área de cierre de las heridas

4.1.5.3. Tratamiento Estadístico de las Muestras A, B y C con aplicación de 0,125 ML.

Tabla N° 9. Resultado Estadístico de las Muestras A, B y C con aplicación de 0.125 mL

0.25 A	0.25 B	0.25 C	c+	c-
0.5624	0.6399	0.4899	0.0063	0.6723
0.616	0.648	0.476	0.0056	0.7395
0.5928	0.7055	0.4485	0.0042	0.714
0.6004	0.6478	0.442	0.0072	0.6723
0.648	0.6966	0.3968	0.0056	0.7224
0.60392	0.66756	0.45064	0.00578	0.7041

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0.25 A	5	3.0196	0.60392	0.0009 87232 0.0009
0.25 B	5	3.3378	0.66756	55223 0.0012
0.25 C	5	2.2532	0.45064	90613 0.0000
c+	5	0.0289	0.00578	01212 0.0009
c-	5	3.5205	0.7041	27135

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.63148774	4	0.407871935	490.06	0.00	2.86608140
Dentro de los grupos	0.01664566	20	0.000832283			2
Total	1.6481334	24				

Prueba de hipótesis:

H₀ = No existen diferencias significativas entre las medias de todos los grupos (P>0.05)

Existen diferencias significativas entre las medias de todos los grupos

H_a = (P<0.05)

Basados en el nivel de significancia usado es de 0.05 y p hallado es menor a ese valor rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna, por lo tanto las medias de todos los grupos son diferentes y se procede a realizar la prueba de Dunnet, para comparaciones múltiples con el control negativo

Estadístico Dunnet

$$|\bar{x}_j - \bar{x}_0| > t_{\alpha} \sqrt{2MS_W/n}$$

	Xi - X0	>	0.06158
	0.125A - C- =	0.1002 >	0.06158
	0.125B - C- =	0.0365 >	0.06158
	0.125C - C- =	0.2535 >	0.06158
	C+ - C- =	0.6983 >	0.06158

Prueba de hipótesis:

H₀ = $\mu_i = \mu_0$ i= 1, 2, 3 y 4
H_a = $\mu_1 \neq \mu_0$ μ_0 = media del control negativo

Criterio de aceptación:

Como, los datos hallados en A y C son mayores que el de Dunnet, se concluye que estos grupos difieren significativamente del control negativo utilizado y que presentan mejor cierre de la herida con respecto al control negativo.

Conclusión:

A y C al volumen de aplicación de 0.125 mL, presentan efecto cicatrizante disminuyendo el área de cierre de las heridas significativamente; en el tratamiento B al volumen de aplicación de 0.125 mL no se encuentra diferencia estadísticamente significativa con respecto al control, por lo tanto no hay actividad

4.1.6 Resultado en porcentajes por cada grupo de Tratamiento

4.1.6.1. Resultado del Grupo A

GRUPOS	% DE CIERRE EN 28 DIAS
Grupo A:0.5mL.	92%
Grupo A:0.25mL.	79%
Grupo A:0.125mL.	39%

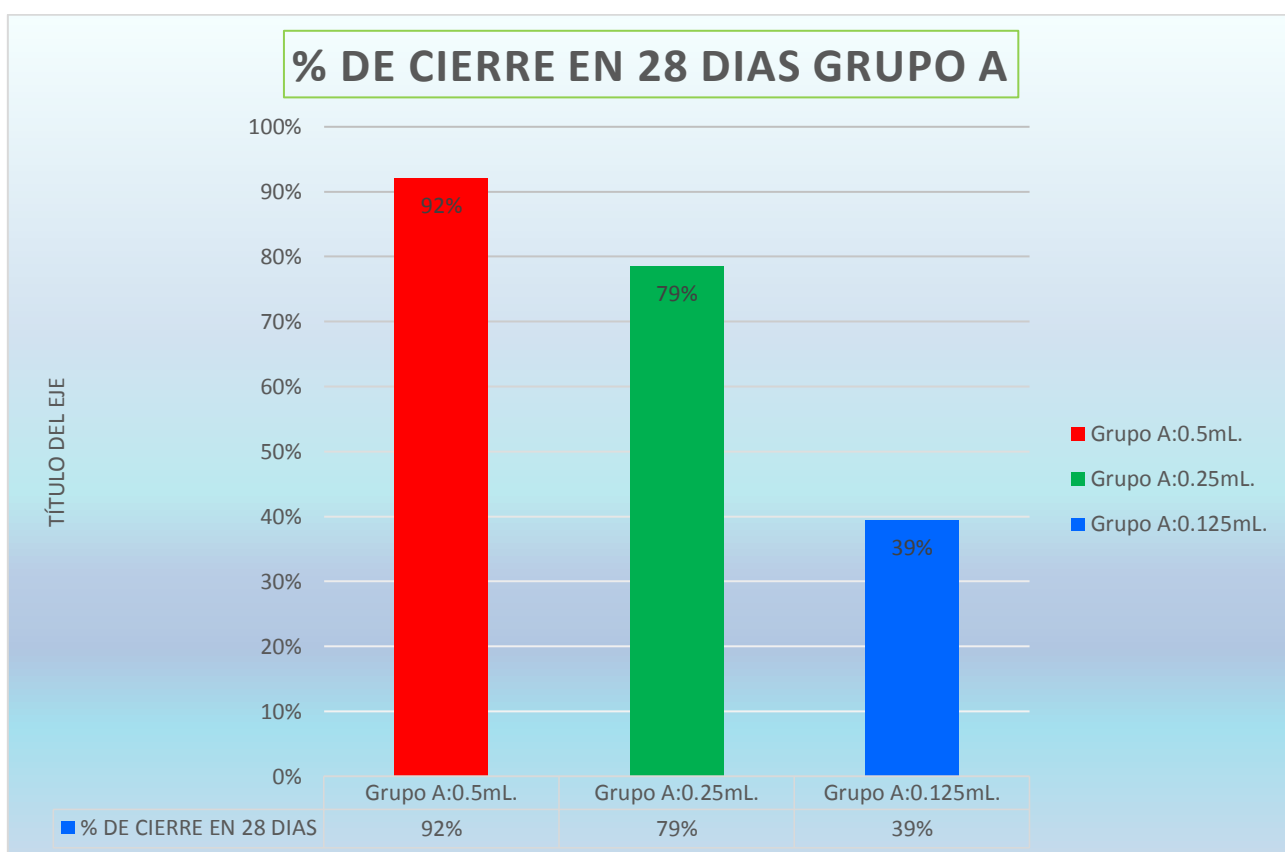


Figura 16. Porcentaje de cicatrización de grupo A.

Fuente: Elaboración Propia.

4.1.6.2. Resultado del Grupo B

GRUPOS	% DE CIERRE EN 28 DÍAS
Grupo B:0.5mL.	83%
Grupo B:0.25mL.	71%
Grupo B:0.125mL.	33%

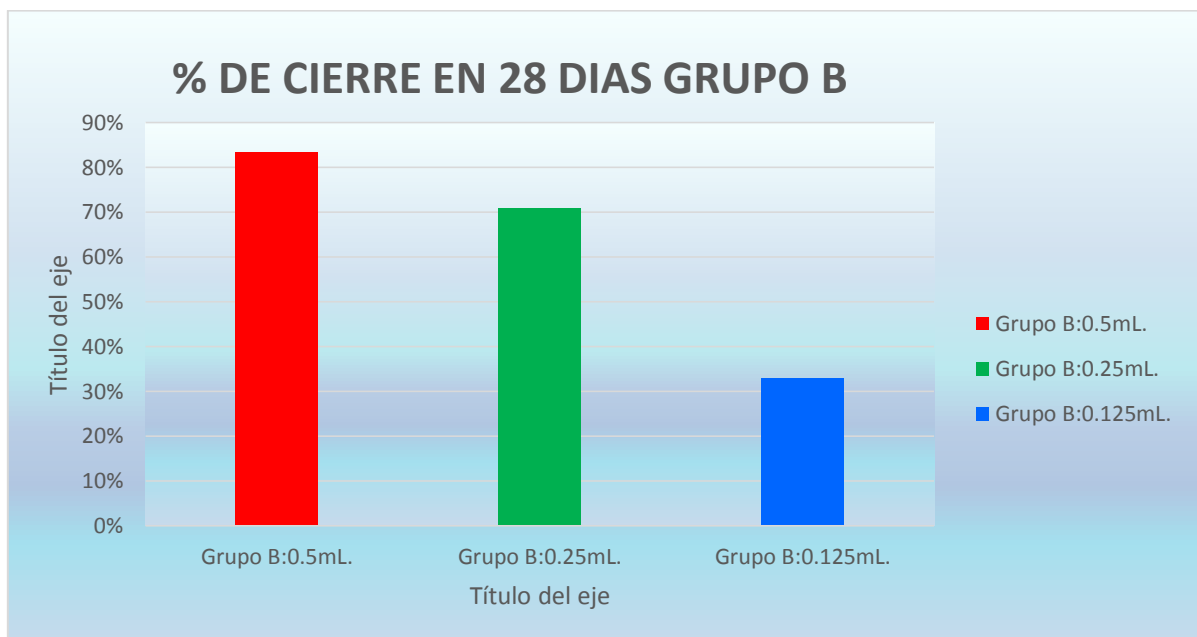


Figura N° 17. Porcentaje de cicatrización del grupo B.

Fuente: Elaboración Propia.

4.1.6.3. Resultado del Grupo C

GRUPOS	% DE CIERRE EN 28 DÍAS
Grupo C:0.5mL.	95%
Grupo C:0.25mL.	87%
Grupo C:0.125mL.	55%

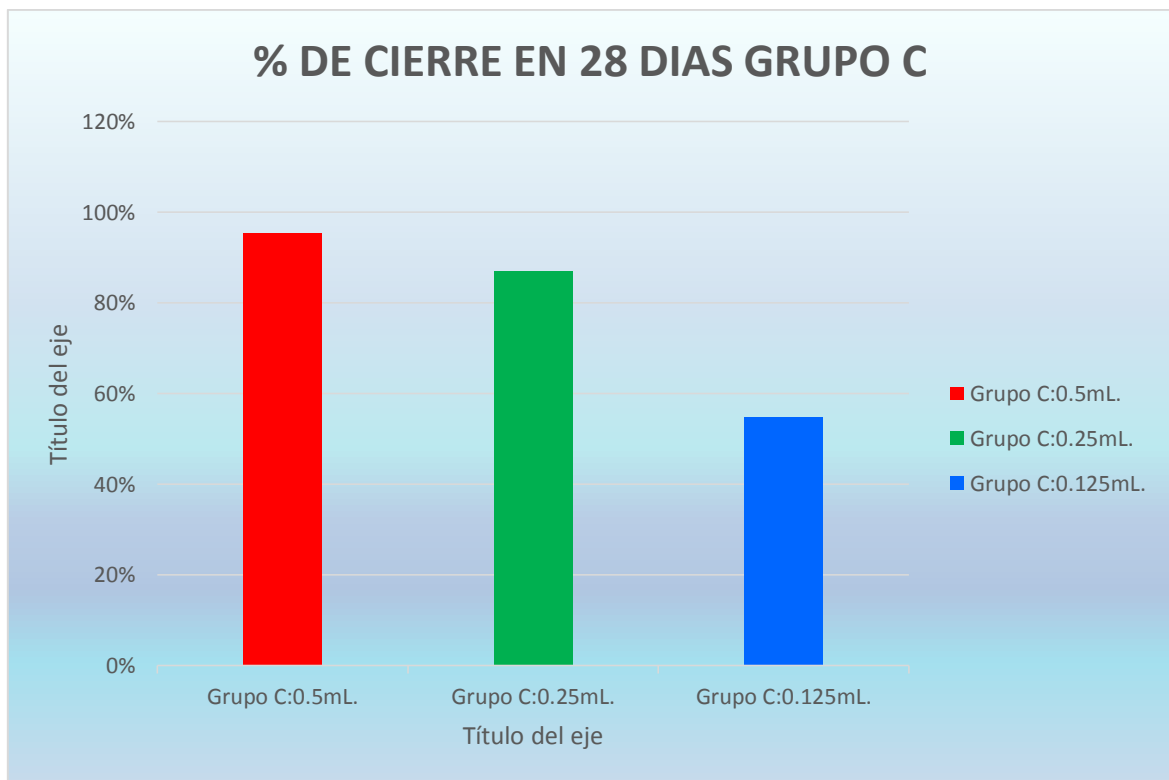


Figura N° 18. Porcentaje de cicatrización en el grupo C.

Fuente: Elaboración Propia.

4.1.6.4. Resultados de comparación en porcentajes de Cicatrización Grupo A - Control Positivo

GRUPOS	% DE CIERRE EN 28 DÍAS
Grupo A: 0.5mL.	92%
Grupo A: 0.25mL.	79%
Grupo A: 0.125mL.	39%
CICATRIN(+)	99%

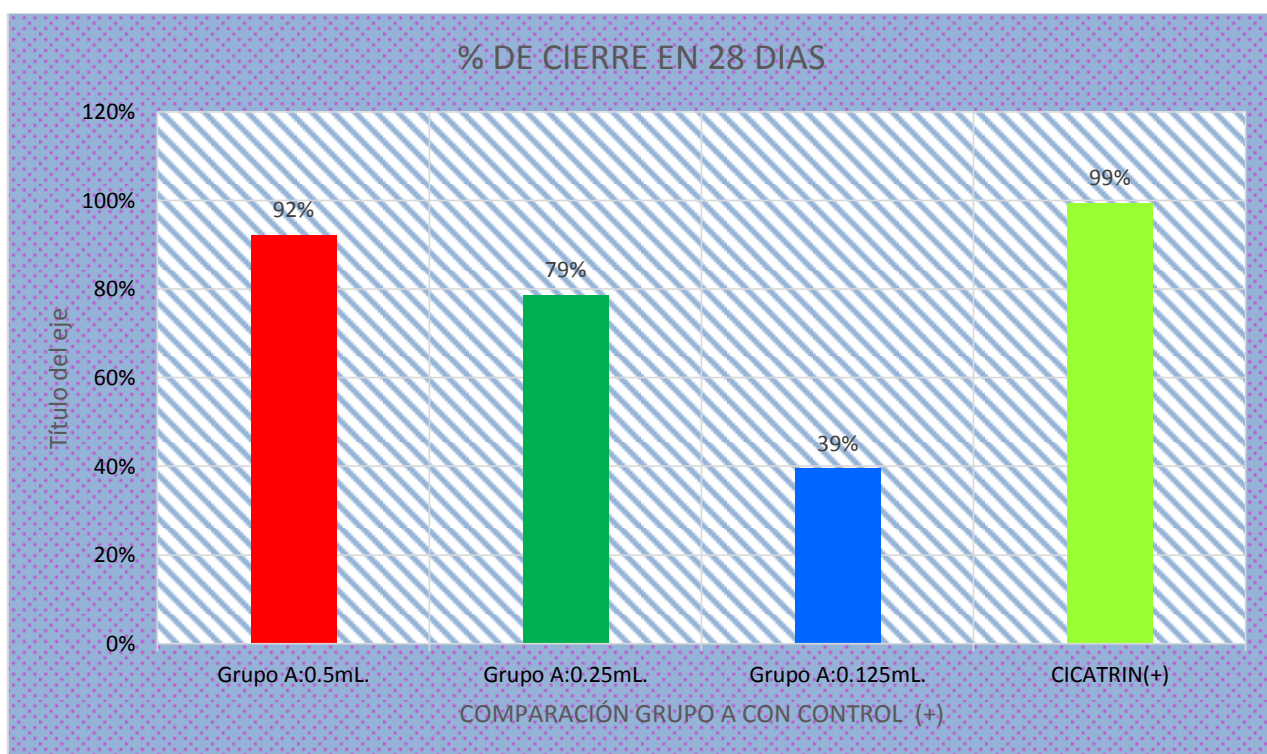


Figura N° 19. Porcentaje de cicatrización en comparación del grupo A – CONTROL POSITIVO.

Fuente: Elaboración Propia.

4.1.6.5. Resultados de comparación en porcentajes de Cicatrización Grupo B - Control Positivo

GRUPOS	% DE CIERRE EN 28 DÍAS
Grupo B: 0.5mL.	83%
Grupo B: 0.25mL.	71%
Grupo B: 0.125mL.	33%
CICATRIN(+)	99%

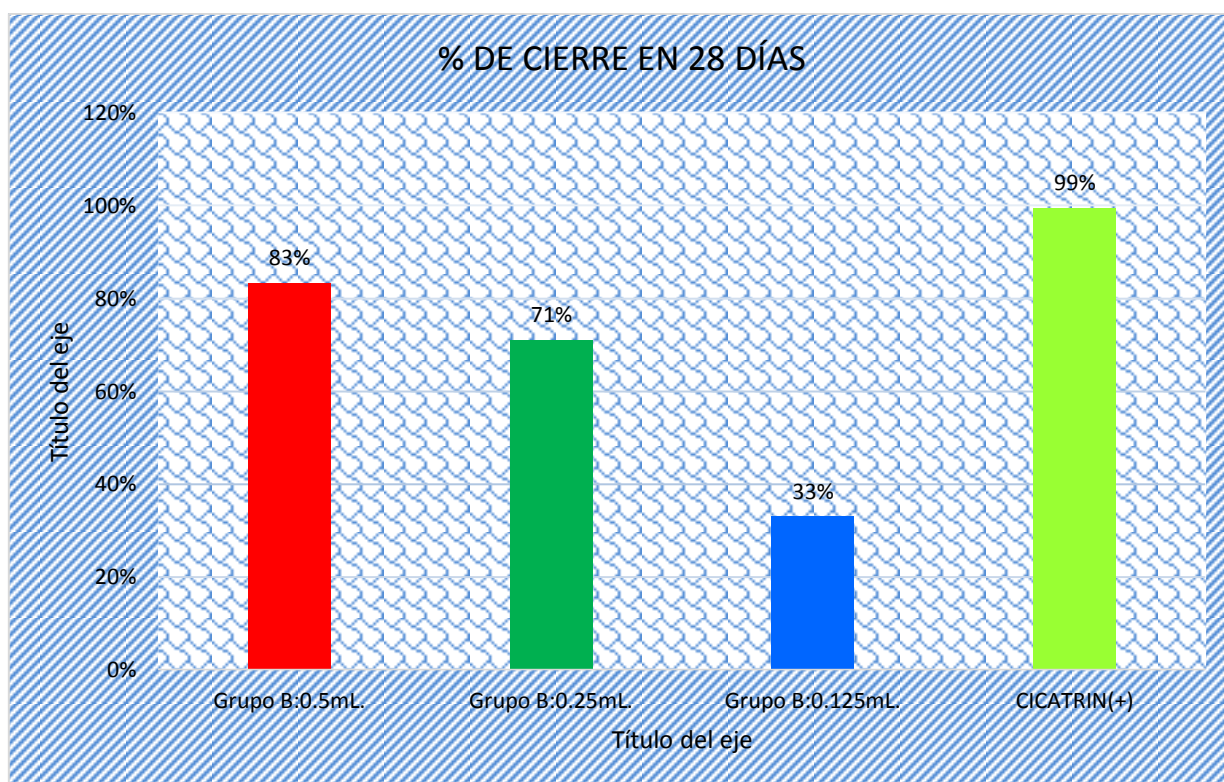


Figura N° 20. Comparación en porcentajes de cicatrización GRUPO B – control positivo.

Fuente: Elaboración Propia.

4.1.6.6. Resultados de comparación en porcentajes de Cicatrización Grupo C - Control Positivo

GRUPOS	% DE CIERRE EN 28 DÍAS
Grupo C: 0.5mL.	95%
Grupo C: 0.25mL.	87%
Grupo C: 0.125mL.	55%
CICATRIN(+)	99%

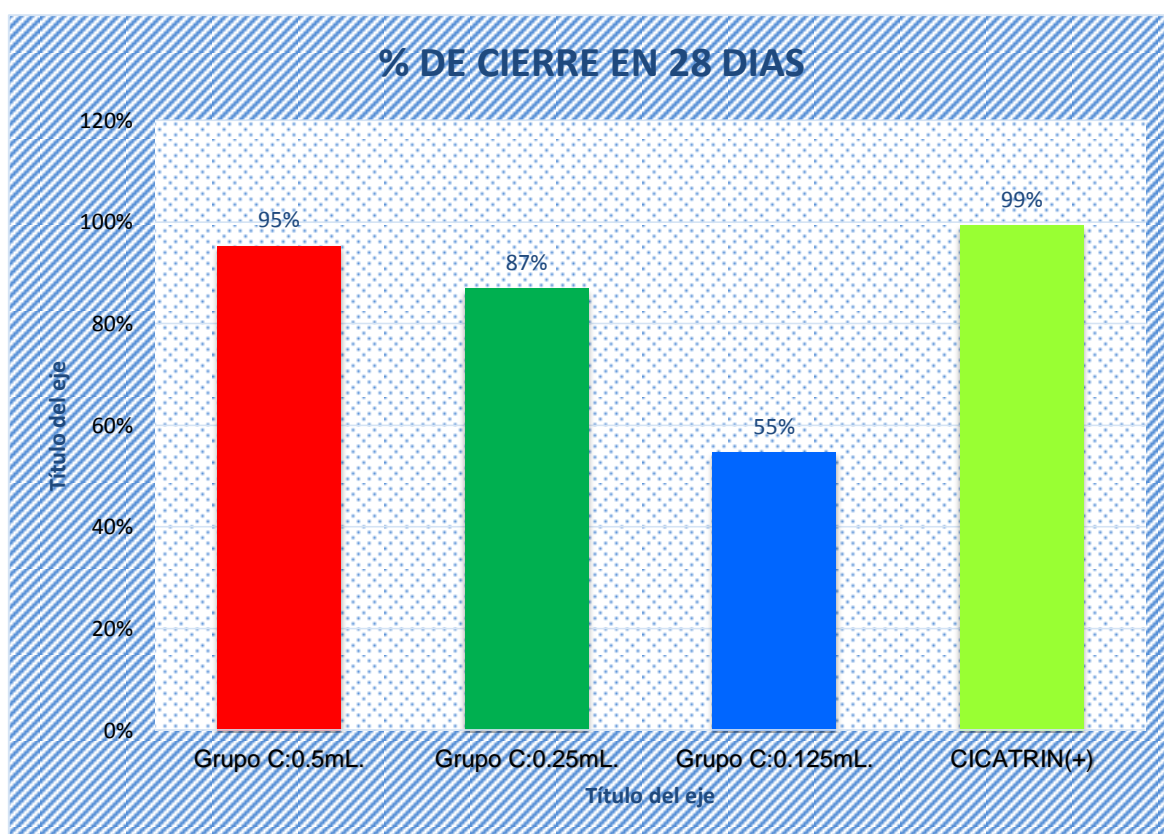


Figura N° 21. Comparación en porcentajes de cicatrización del grupo B – control positivo.

Fuente: Elaboración Propia.

4.1.6.7. Resultados de comparación general del área de cierre del Grupo A, B y C con el Control (+) y Control Negativo (-)

GRUPOS	% DE CIERRE EN 28 DÍAS
Grupo A: 0.5mL.	92%
Grupo A: 0.25mL.	79%
Grupo A: 0.125mL.	39%
Grupo B: 0.5mL.	83%
Grupo B: 0.25mL.	71%
Grupo B: 0.125mL.	33%
Grupo C: 0.5mL.	95%
Grupo C: 0.25mL.	87%
Grupo C: 0.125mL.	55%
CICATRIN(+)	99%
CONTROL(-)	29%

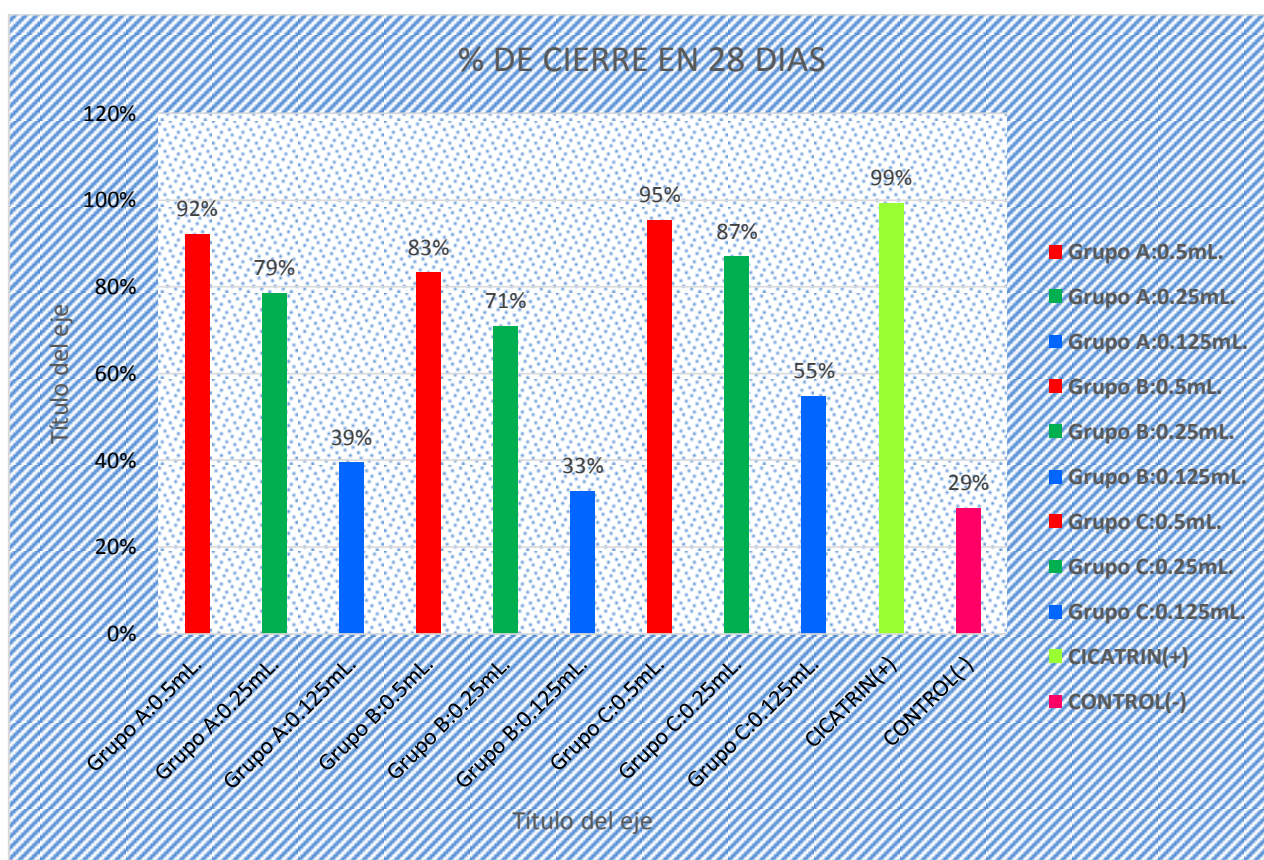


Figura N° 22. Comparación en porcentajes de la comparación general de cicatrización del grupo A, B Y C con el control positivo y negativo.

Fuente: Elaboración Propia.

4.1.7 Resultado de Estudio Histopatológico

4.1.7.1. Resultados histopatológico del control negativo

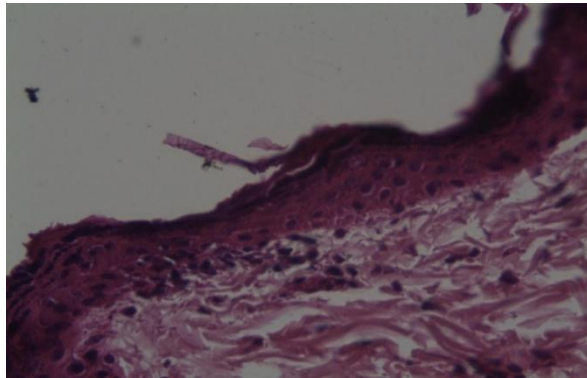


Figura N° 23. Cortes del control negativo.

Fuente: Elaboración Propia

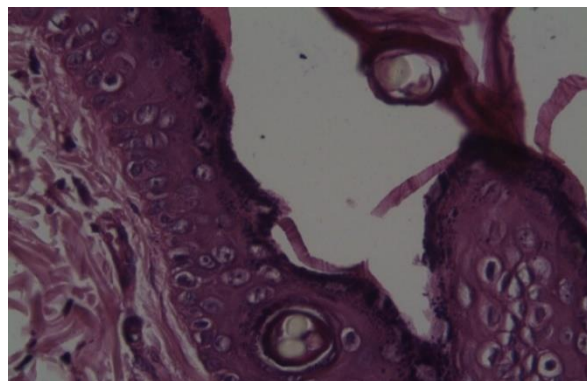


Figura N° 24. Cortes del control negativo.

Fuente: Elaboración Propia

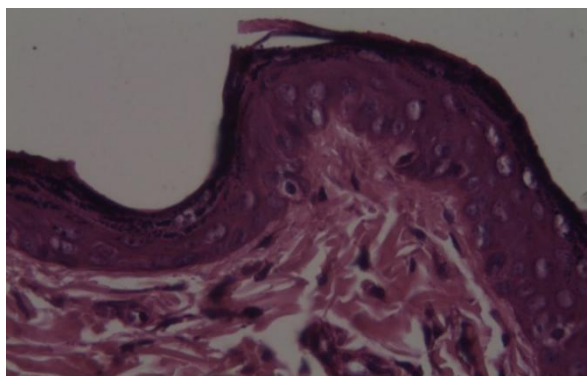


Figura N° 25. Cortes del control negativo.

Fuente: Elaboración Propia

Resultado del diagnóstico histopatológico:

CONTROL NEGATIVO:

Aumento en el epitelio de la epidermis produciéndose Hiperproliferación celular con engrosamiento. Acanthisis e hiperqueratosis severa. Poca presencia de queratinocitos epidermales apoptoticos en membrana basal. Infiltrado inflamatorio severo. No reepitelizacion, ni neovascularizacion, poca presencia de fibras de colágeno.

4.1.7.2. Resultados histopatológico del control positivo (Cicatrín^(R))

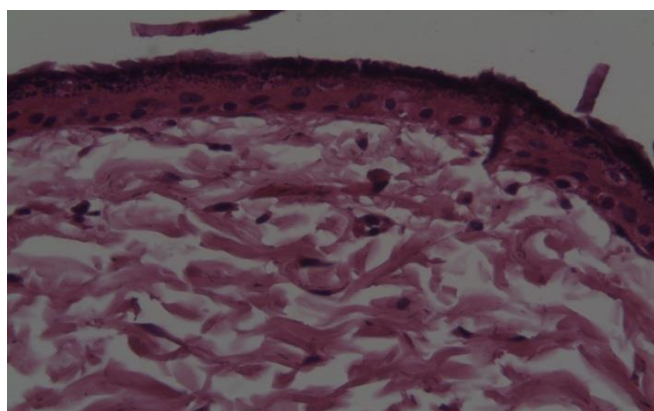


Figura N° 26. Cortes del control positivo.

Fuente: Elaboración Propia

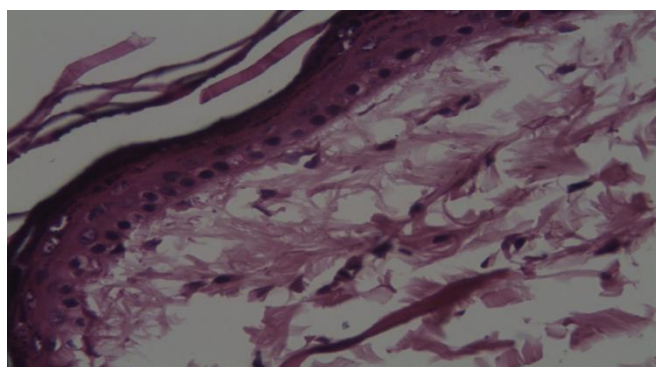


Figura N° 277. Cortes del control positivo.

Fuente: Elaboración Propia

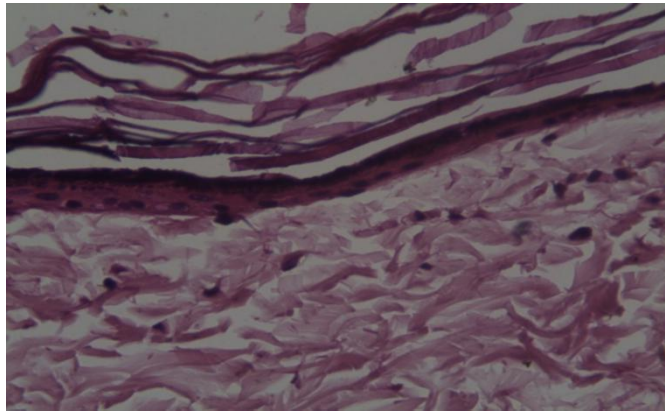


Figura N° 28. Cortes del control positivo.

Fuente: Elaboración Propia

Resultados del diagnóstico histopatológico:

CONTROL POSITIVO (CICATRIN^(R)): Foco de acantosis sin lesión que no compromete al espesor del epitelio. Hay poca presencia de células atípicas solo en el estrato basal de la epidermis. Piel sin alteraciones morfológicas, histología conservada, sin muestras de ningún tipo de daño celular. Elevada presencia de queratinocitos, reepitelización y neo vascularización, elevada presencia de fibras de colágeno.

4.1.7.3. Resultados histopatológico de la Muestra A y C (0,25 ML)

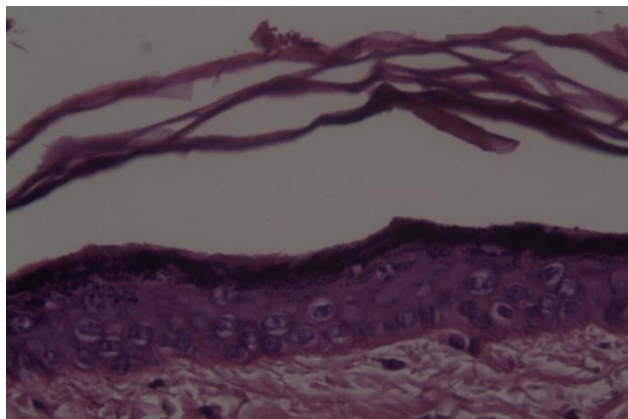


Figura N° 28. Cortes del grupo C.

Fuente: Elaboración Propia

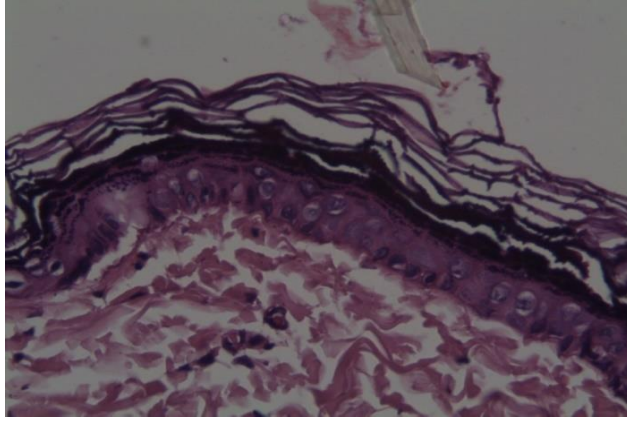


Figura N° 29. Cortes del grupo C.

Fuente: Elaboración Propia.

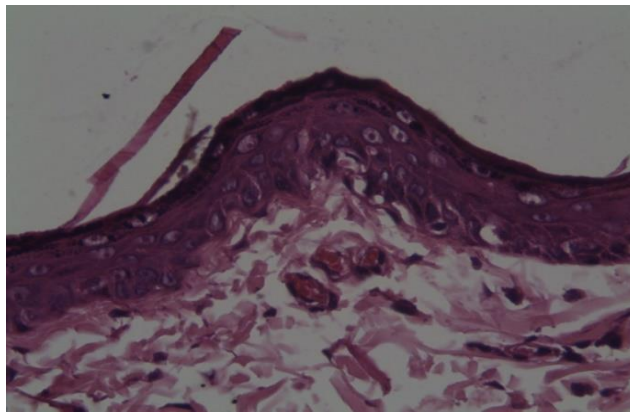


Figura N° 30. Muestra A.

Fuente: Elaboración Propia

Resultado de diagnóstico histopatológico:

MUESTRA A y C (0.25ml): Hiperproliferación epidérmica y leve daño epidérmico agudo atípico. Mitosis intraepidérmicas concordantes con queratosis actínica leve y moderada. Ligera reepitelización y neo vascularización, sin presencia de fibras de colágeno.

4.1.7.4. Resultados histopatológico de la Muestra C (0,5 ML)

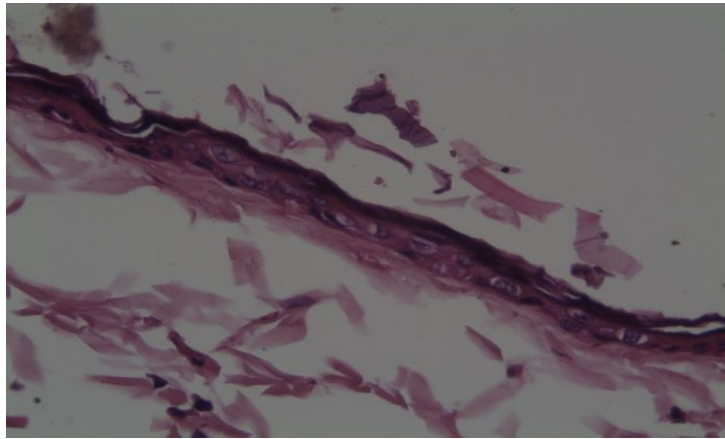


Figura N° 31. Corte histopatológico de la muestra C A 0.5ML.

Fuente: Elaboración Propia.

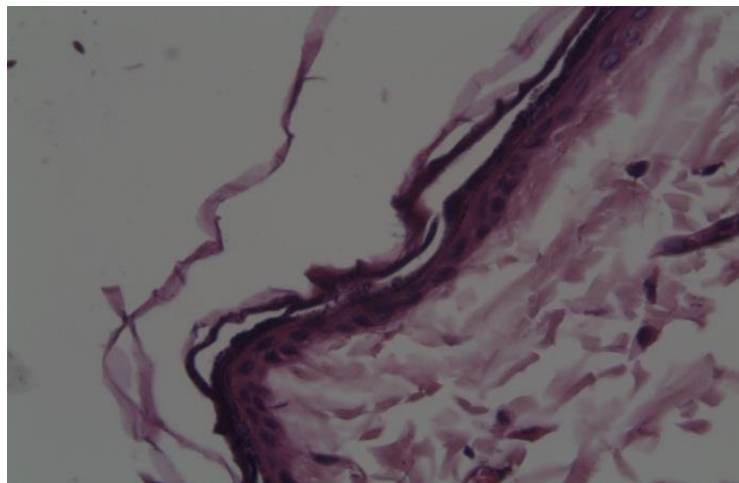


Figura N° 32. Corte histopatológico de la muestra C A 0.5ML.

Fuente: Elaboración Propia.

Resultado del diagnóstico histopatológico:

MUESTRA C (0.5ml): Foco de acantosis e hiperqueratosis leve. Sin lesión en el epitelio y poca presencia de células atípicas en la epidermis. . Elevada presencia de queratinocitos, reepitelización y neovascularización, elevada presencia de fibras de colágeno con respecto al control. Piel con poca alteración morfológica, histología casi conservada.

4.1.7.5. Resultados histopatológico de la Muestra A (0,5 ML)

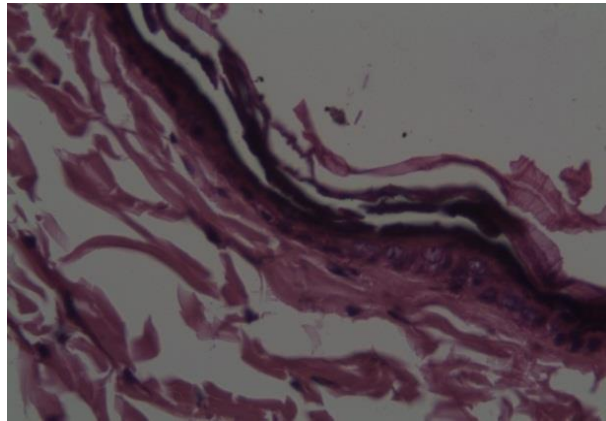


Figura N° 33. Cortes del grupo A.

Fuente: Elaboración Propia.

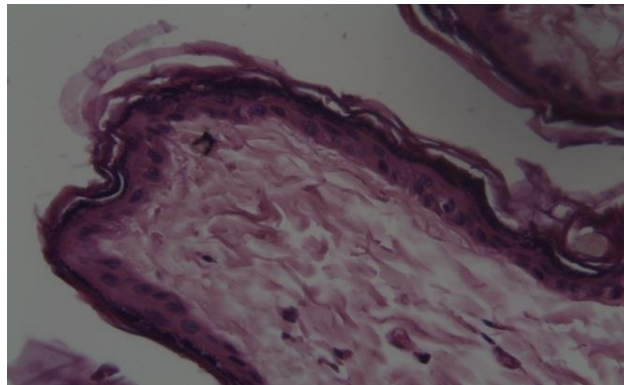


Figura N° 34. Cortes del grupo A.

Fuente: Elaboración Propia.

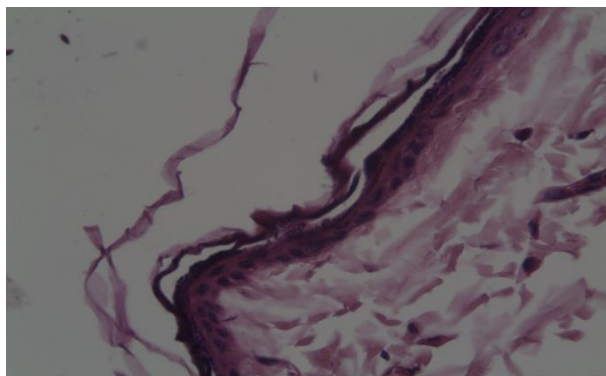


Figura N° 35. Cortes del grupo A.

Fuente: Elaboración Propia.

Resultado del diagnóstico histopatológico:

MUESTRA A (0.5ml): Proliferación epidérmica. Queratosis actínica leve con presencia de células atípicas solo en el estrato basal de la epidermis. No degeneración del tejido conectivo dérmico. Presencia de queratinocitos, reepitelización y neovascularización, presencia de fibras de colágeno con respecto al control.

4.1.7.6. Resultados histopatológico de la Muestra B (0,5 ML)

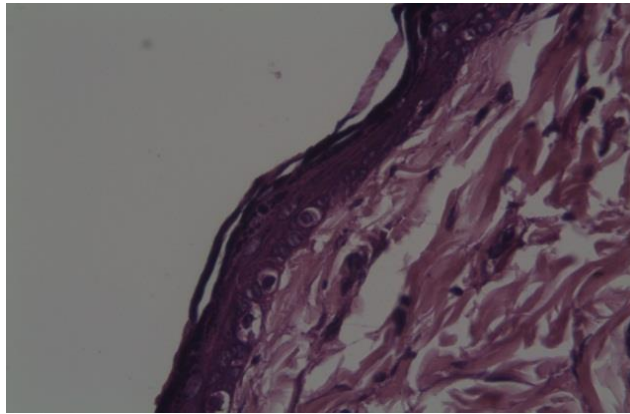


Figura 36. Corte de muestra B.

Fuente: Elaboración Propia.

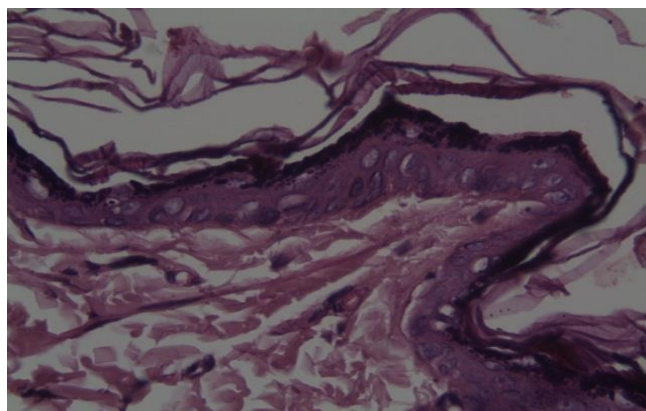


Figura 37. Corte de muestra B.

Fuente: Elaboración Propia.

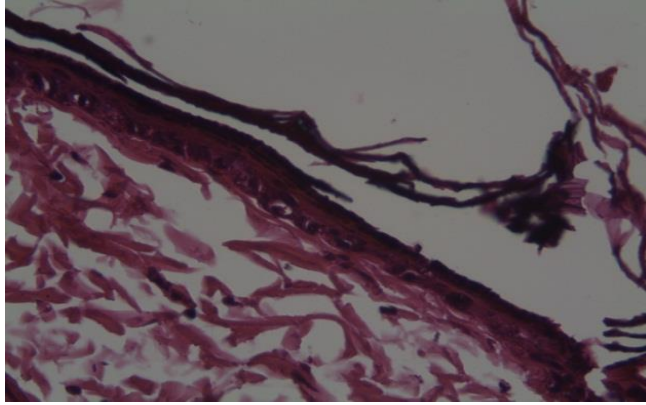


Figura 38. Corte de muestra B.

Fuente: Elaboración Propia.

Resultado del diagnóstico histopatológico:

MUESTRA B (0.5ml): Foco de acantosis e hiperqueratosis leve con presencia de células atípicas. No hay degeneración ni alteración del tejido conectivo denso. Poca presencia de queratinocitos y fibras de colágeno observables.

4.1.8 Prueba de Hipótesis Efecto Cicatrizante

En este apartado se realizó la prueba y análisis de las hipótesis planteadas, para la ejecución del proyecto investigación, mencionando que la hipótesis principal corresponde a:

“El gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens L.*) Y extracto etanólico de la sábila (*Aloe vera L. Burn*) posee efecto cicatrizante en ratas albinas.”

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

4.1.8.1. Contrastación de Hipótesis Específicas

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

- 1) “Existen metabolitos secundarios en el extracto etanólico de la ortiga (*Urtica urens L.*) Y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera L. Burn*) responsables de la cicatrización”
- 2) “Existe una concentración del gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens L.*) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera L. Burn*) que posee mayor efecto cicatrizante ratas albinas”
- 3) “El gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens L.*) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera L. Burn*) tiene efecto cicatrizante en comparación con el cicatrin^R en ratas albinas”

4.1.8.1.1. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS ESPECÍFICA 1

La hipótesis específica 1 corresponde a:

“Existen metabolitos secundarios en el extracto etanólico de la ortiga (*Urtica urens L.*) Y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera L. Burn*) responsables de la cicatrización”

A fin de poder realizar el contraste de esta hipótesis, se realizó el Screening fitoquímico de ambas plantas realizando una secuencia correcta de estudio fitoquímico y extracción de metabolitos, de los cuales los resultados salieron de manera significativa positivos:

Para la prueba de alcaloides:

Con los reactivos de Dragendorf (+++) y el reactivo de Wagner (++) salieron positivos para la ortiga. Observando un precipitado de color marrón con el reactivo de Wagner y color naranja con el reactivo de Dragendorf.

Con los reactivos Scheibler (+++) Dragendorf (+++) y Wagner (+++) se determinó presencia de alcaloides en la sábila, significancia que nos asegura de manera cualitativa la presencia de alcaloides en la muestra.

Para la prueba de compuestos fenólicos y flavonoides:

Debido a la diversidad y las subdivisiones que tienen los flavonoides y los compuestos fenólicos es de mucha importancia, ya que se les atribuye acciones terapéuticas como antioxidantes, antibacteriano, antiinflamatorias, cicatrizantes, etc.

Con los reactivos Shinoda (+++) Cloruro férrico (+++) Gelatina al 1% (++) se pudo observar diversas reacciones y coloración en la muestra de ortiga en la cuales se puede determinar:

Con el reactivo de Shinoda un cambio del color inicial a un color rojo muestra que hay presencia de flavonoides:

El zinc en polvo reacciona con HCl el hidrogeno generado produce por reducción el ion flavinilo de color rojo escarlata (varía desde rojo muy débil hasta rojo escarlata)

Con el reactivo cloruro férrico cambio a una coloración verde, es características para compuestos fenólicos resultan coloraciones verdes a marrón para derivados del catecol y coloraciones azuladas para derivados del pirogalol. Por lo que se determina los compuestos fenólicos presentes en la muestra son derivados del pirogalol.

Con gelatina al 1% se observó presencia de un precipitado blanco nos indica presencia de taninos, los taninos precipitan con la presencia de proteínas en solución originándose desde una opalescencia blanca hasta precipitado blanco.

Con muestra de la sábila había poca presencia de flavonoides por lo que se observó con el reactivo de tricloruro férrico un cambio a coloración verduzco (++) y la presencia de taninos con la reacción de gelatina un precipitado de color blanco poco intenso (++)

Para la prueba de antraquinonas:

Las naftoquinonas y antraquinonas libres al ser tratados con la solución de hidróxido de amoníaco forman complejos de color rojo-cereza. Esta reacción es utilizada para la detección directa de quinonas en los extractos vegetales.

Es de mucha importancia en la cicatrización y tuvo presencia en la muestra de sábila presentando una coloración roja con la reacción de Bortranger. (++)

Hipótesis contrastada con cromatografía en capa fina.

Cromatografía en capa fina – alcaloides

Para la comparación se usó un estándar de Cafeína en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 µl, caso similar con la muestra de *Urtica urens* “Ortiga” y el mucilago de *Aloe vera* “Sábila”. Las muestras en análisis como son “Ortiga” y “Sábila” dieron positivos para alcaloides. Presentado un coloración.

Cromatografía en capa fina – Flavonoides

Para la comparación se usó un estándar de Quercetina y Rutina en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 µl a la placa cromatografica, caso similar con la muestra de *Urtica urens* “Ortiga” y el mucilago de *Aloe vera* “Sábila”.

Una vez terminada la corrida 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 “Ortiga” y “Sábila” dieron positivo para flavonoides.

Cromatografía en capa fina – Antraquinonas

Para la prueba de cromatografía en capa fina para alcaloides se usó una placa cromatografica de la marca Merck (TLC Silica gel F₂₅₄) como fase estacionaria, para nuestro solvente de elución fue

Cloroformo - Metanol en proporción de (99:1) respectivamente, también se usó una jeringa en μl .

Para la comparación se usó un estándar de Cochinilla en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 μl a la placa cromatográfica, caso similar con la muestra de *Aloe vera* "Sábila". Una vez terminada la corrida la muestra es secada para luego ser rociada con el revelador de Bortranger (hidróxido de sodio al 5%), la evidencia de manchas rojas o rasadas da la evidencia de antraquinonas.

La muestra de "Sábila" evidenció poco color rojo, cabe resaltar que el reactivo de hidróxido de sodio es muy corrosivo en la placa. En la prueba de espectrofotometría UV-VISIBLE de determino la presencia de flavonoides totales con un patrón que es la Quercetina. Observada a 415nm.

La cuantificación de flavonoides totales en la muestra de ambas plantas tenemos los siguientes resultados:

2.95mg. de Quercetina en 1 mL. De muestra de ortiga.

0.07mg. de Quercetina en 1mL. De muestra sábila.

4.1.8.1.2. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS ESPECÍFICA 2

La hipótesis específica 2 corresponde a:

2.-"Existe una concentración del gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens L.*) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera L. Burn*) que posee mayor efecto cicatrizante ratas albinas"

Al trabajar con una variable independiente cualitativa y una variable dependiente cuantitativa que se desarrollan en un diseño longitudinal que actúa como una variable independiente cualitativa se planteó seguir la vía de los análisis multivariados; por estos motivos se estableció la necesidad de emplear el Análisis de Varianza (ANNOVA) de medidas repetidas para tener mayor dispersión de datos.

Factores.

IV.- Estimación del P-Valor

Se llevó a cabo la ejecución de la prueba Análisis de Varianza (ANNOVA) de medidas repetidas realizadas de dos Factores, a fin de poner a prueba la hipótesis específica planteada.

A fin de poder demostrar la mencionada hipótesis, se realizó el ritual de Significancia estadística, para lo cual se siguió una secuencia ordenada de pasos:

0.25 A	0.25 B	0.25 C	c+	c-
0.2016	0.3422	0.1085	0.0063	0.6723
0.1978	0.2499	0.1221	0.0056	0.7395
0.2058	0.2646	0.144	0.0042	0.714
0.235	0.33	0.1326	0.0072	0.6723
0.2244	0.2646	0.14	0.0056	0.7224
0.21292	0.29026	0.12944	0.00578	0.7041

Prueba de hipótesis:

H0 = No existen diferencias significativas entre las medias de todos los grupos ($P > 0.05$)

Ha = Existen diferencias significativas entre las medias de todos los grupos ($P < 0.05$)

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0.25 A	5	1.0646	0.21292	0.0002567
0.25 B	5	1.4513	0.29026	0.0018057
0.25 C	5	0.6472	0.12944	0.0002065
c+	5	0.0289	0.00578	1.212E-06
c-	5	3.5205	0.7041	0.0009271

Criterio de aceptación:

Como el nivel de significancia usado es de 0.05 y p hallado es menor a ese valor rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna, por lo tanto las medias de todos los grupos son diferentes y se procede a realizar la prueba de Dunnet, para comparaciones múltiples con el control negativo.

Estadístico Dunnet

$$|\bar{x}_j - \bar{x}_0| > t_d \sqrt{2MS_w/n}$$

	$ X_i - X_0 $	>	0.05398
0.25A - C-	0.4912	>	0.05398
0.25B - C-	0.4138	>	0.05398
0.25C - C-	0.5747	>	0.05398
C+ - C-	0.6983	>	0.05398

Prueba de hipótesis:

$H_0 = \mu_i = \mu_0 \quad i = 1, 2, 3 \text{ y } 4$

$H_a = \mu_1 \neq \mu_0 \quad \mu_0 = \text{media del control negativo}$

Criterio de aceptación:

Como, todos los datos hallados son mayores que el de Dunnet, se concluye que todos los grupos difieren significativamente del control negativo utilizado y que presentan mejor cierre de la herida con respecto al control negativo.

TABLAS.- Análisis de la distribución de los animales y del tamaño de heridas incisas en cada día de evaluación y disminución significativa por cada grupo y concentración.

Tabla N° 10. Del grupo A en concentración de 0.5mL.

Dosis (vol.)(ml)	N° de rata	Incisión	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días
0.5	1	Corte Superior	1	0.96	0.75	0.54	0.35
		Corte Inferior	1	0.97	0.72	0.59	0.31
		Área	1	0.9312	0.54	0.3186	0.1085
	2	Corte Superior	1	0.97	0.83	0.55	0.28
		Corte Inferior	1	0.97	0.81	0.52	0.27
		Área	1	0.9409	0.6723	0.286	0.0756
	3	Corte Superior	1	0.96	0.79	0.49	0.27
		Corte Inferior	0.99	0.95	0.73	0.5	0.31
		Área	0.99	0.912	0.5767	0.245	0.0837
	4	Corte Superior	0.99	0.95	0.75	0.5	0.28
		Corte Inferior	1	0.93	0.71	0.49	0.25
		Área	0.99	0.8835	0.5325	0.245	0.07
	5	Corte Superior	1	0.95	0.71	0.48	0.24
		Corte Inferior	1	0.93	0.69	0.49	0.22
		Área	1	0.8835	0.4899	0.2352	0.0528

FUENTE: elaboración propia.

Tabla N° 11. Del grupo A en concentración de 0.25 ml.

Dosis (vol.)(ml)	N° de rata	Incisión	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días
0.25	1	Corte Superior	1	0.98	0.84	0.61	0.48
		Corte Inferior	1	0.97	0.85	0.55	0.42
		Área	1	0.9506	0.714	0.3355	0.2016
	2	Corte Superior	1	0.96	0.82	0.58	0.46
		Corte Inferior	1	0.98	0.84	0.62	0.43
		Área	1	0.9408	0.6888	0.3596	0.1978
	3	Corte Superior	1	0.97	0.81	0.65	0.49
		Corte Inferior	1	0.97	0.83	0.59	0.42
		Área	1	0.9409	0.6723	0.3835	0.2058
	4	Corte Superior	0.99	0.96	0.79	0.64	0.47
		Corte Inferior	1	0.95	0.81	0.66	0.5
		Área	0.99	0.912	0.6399	0.4224	0.235
	5	Corte Superior	1	0.96	0.86	0.68	0.51
		Corte Inferior	1	0.97	0.82	0.64	0.44
		Área	1	0.9312	0.7052	0.4352	0.2244

FUENTE: elaboración propia.

Tabla N° 12. Del grupo A en concentración de 0.125mL.

Dosis (vol.)(ml)	N° de rata	Incisión	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días
0.125mL.	1	Corte Superior	1	0.98	0.89	0.86	0.74
		Corte Inferior	1	0.98	91	0.87	0.76
		Área	1	0.9604	80.99	0.7482	0.5624
	2	Corte Superior	1	0.97	0.87	0.85	0.77
		Corte Inferior	1	0.98	0.89	0.86	0.8
		Área	1	0.9506	0.7743	0.731	0.616
	3	Corte Superior	1	0.98	0.91	0.87	0.76
		Corte Inferior	1	0.96	0.89	0.85	0.78
		Área	1	0.9408	0.8099	0.7395	0.5928
	4	Corte Superior	0.99	0.98	0.89	0.9	0.79
		Corte Inferior	1	0.96	0.9	0.87	0.76
		Área	0.99	0.9408	0.801	0.783	0.6004
	5	Corte Superior	1	0.98	0.92	0.84	0.8
		Corte Inferior	1	0.98	0.94	0.85	0.81
		Área	1	0.9604	0.8648	0.714	0.648

FUENTE: elaboración propia.

Tabla N° 13. Del grupo B en concentración de 0.5mL.

Dosis (vol.)(ml)	N° de rata	Incisión	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días
0.5	1	Corte Superior	1	0.98	0.82	0.69	0.48
		Corte Inferior	1	0.98	0.84	0.7	0.45
		Área	1	0.9604	0.6888	0.483	0.216
	2	Corte Superior	1	0.99	0.85	0.64	0.41
		Corte Inferior	1	0.98	0.86	0.61	0.39
		Área	1	0.9702	0.731	0.3904	0.1599
	3	Corte Superior	1	0.97	0.85	0.58	0.37
		Corte Inferior	1	0.98	0.82	0.55	0.42
		Área	1	0.9506	0.697	0.319	0.1554
	4	Corte Superior	1	0.97	0.84	0.61	0.38
		Corte Inferior	1	0.96	0.79	0.58	0.39
		Área	1	0.9312	0.6636	0.3538	0.1482
	5	Corte Superior	1	0.98	0.77	0.56	0.42
		Corte Inferior	1	0.98	0.8	0.58	0.37
		Área	1	0.9604	0.616	0.3248	0.1554

FUENTE. Elaboración propia.

Tabla N° 14. Del grupo B en concentración de 0.25mL.

Dosis (vol.)(ml)	N° de rata	Incisión	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días
0.25	1	Corte Superior	1	0.99	0.91	0.74	0.59
		Corte Inferior	0.99	0.98	0.92	0.76	0.58
		Área	0.99	0.9702	0.8372	0.5624	0.3422
	2	Corte Superior	1	0.97	0.89	0.71	0.49
		Corte Inferior	1	0.98	0.93	0.77	0.51
		Área	1	0.9506	0.8277	0.5467	0.2499
	3	Corte Superior	1	0.98	0.9	0.78	0.54
		Corte Inferior	1	0.99	0.89	0.76	0.49
		Área	1	0.9702	0.801	0.5928	0.2646
	4	Corte Superior	1	0.98	0.86	0.8	0.55
		Corte Inferior	1	0.96	0.89	0.79	0.6
		Área	1	0.9408	0.7654	0.632	0.33
	5	Corte Superior	1	0.98	0.92	0.78	0.54
		Corte Inferior	1	0.98	0.91	0.76	0.49
		Área	1	0.9604	0.8372	0.5928	0.2646

FUENTE: elaboración propia.

Tabla N° 15. Del grupo B en concentración de 0.125mL.

Dosis (vol.)(ml)	N° de rata	Incisión	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días
0.125	1	Corte Superior	1	0.98	0.94	0.9	0.81
		Corte Inferior	1	0.99	0.95	0.91	0.79
		Área	1	0.9702	0.893	0.819	0.6399
	2	Corte Superior	0.99	0.98	0.95	0.92	0.81
		Corte Inferior	1	0.98	0.93	0.89	0.8
		Área	0.99	0.9604	0.8835	0.8188	0.648
	3	Corte Superior	1	0.98	0.94	0.91	0.85
		Corte Inferior	1	0.97	0.93	0.92	0.83
		Área	1	0.9506	0.8742	0.8372	0.7055
	4	Corte Superior	1	0.99	0.91	0.88	0.82
		Corte Inferior	1	0.97	0.92	0.89	0.79
		Área	1	0.9603	0.8372	0.7832	0.6478
	5	Corte Superior	1	0.99	0.95	0.91	0.86
		Corte Inferior	0.99	0.98	0.96	0.89	0.81
		Área	0.99	0.9702	0.912	0.8099	0.6966

FUENTE: elaboración propia.

Tabla N° 16. Del grupo C en concentración de 0.5mL.

Dosis (vol.)(ml)	N° de rata	Incisión	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días
0.5 ml	1	Corte Superior	1	0.97	0.85	0.48	0.24
		Corte Inferior	0.99	0.98	0.83	0.45	0.22
		Área	0.99	0.9506	0.7055	0.216	0.0528
	2	Corte Superior	1	0.96	0.84	0.47	0.23
		Corte Inferior	0.99	0.97	0.86	0.44	0.21
		Área	0.99	0.9312	0.7224	0.2068	0.0483
	3	Corte Superior	1	0.98	0.85	0.46	0.22
		Corte Inferior	0.99	0.96	0.87	0.47	0.24
		Área	0.99	0.9408	0.7395	0.2162	0.0528
	4	Corte Superior	1	0.97	0.86	0.46	0.21
		Corte Inferior	1	0.95	0.85	0.44	0.19
		Área	1	0.9215	0.731	0.2024	0.0399
	5	Corte Superior	0.99	0.97	0.87	0.47	0.18
		Corte Inferior	1	0.96	0.84	0.45	0.19
		Área	0.99	0.9312	0.7308	0.2115	0.0342

FUENTE: elaboración propia.

Tabla N° 17. Del grupo C en concentración de 0.25mL.

Dosis (vol.)(ml)	N° de rata	Incisión	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días
0.25	1	Corte Superior	1	0.98	0.89	0.51	0.35
		Corte Inferior	1	0.98	0.9	0.49	0.31
		Área	1	0.9604	0.801	0.2499	0.1085
	2	Corte Superior	1	0.97	0.88	0.52	0.37
		Corte Inferior	0.99	0.98	0.87	0.54	0.33
		Área	0.99	0.9506	0.7656	0.2808	0.1221
	3	Corte Superior	0.99	0.98	0.89	0.56	0.4
		Corte Inferior	1	0.97	0.89	0.55	0.36
		Área	0.99	0.9506	0.7921	0.308	0.144
	4	Corte Superior	1	0.98	0.88	0.58	0.39
		Corte Inferior	1	0.96	0.86	0.52	0.34
		Área	1	0.9408	0.7568	0.3016	0.1326
	5	Corte Superior	0.99	0.98	0.9	0.57	0.4
		Corte Inferior	1	0.98	0.89	0.56	0.35
		Área	0.99	0.9604	0.801	0.3192	0.14

FUENTE: elaboración propia.

Tabla N° 18. Del grupo C en concentración de 0.125mL.

Dosis (vol.)(ml)	N° de rata	Incisión	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días
0.125	1	Corte Superior	1	0.99	0.93	0.82	0.69
		Corte Inferior	1	0.98	0.92	0.83	0.71
		Área	1	0.9702	0.8556	0.6806	0.4899
	2	Corte Superior	1	0.98	0.9	0.84	0.68
		Corte Inferior	1	0.99	0.91	0.86	0.7
		Área	1	0.9702	0.819	0.7224	0.476
	3	Corte Superior	1	0.99	0.94	0.81	0.69
		Corte Inferior	1	0.98	0.93	0.79	0.65
		Área	1	0.9702	0.8742	0.6399	0.4485
	4	Corte Superior	0.99	0.99	0.92	0.84	0.65
		Corte Inferior	1	0.98	0.94	0.81	0.68
		Área	0.99	0.9702	0.8648	0.6804	0.442
	5	Corte Superior	1	0.99	0.95	0.79	0.64
		Corte Inferior	1	0.98	0.97	0.81	0.62
		Área	1	0.9702	0.9215	0.6399	0.3968

FUENTE: elaboración propia.

Tabla N° 19. Control (+): CICATRIN^(R)

CONTROL+ CICATRIN	0.5	1	Corte Superior	1	0.94	0.16	0.11	0.09
			Corte Inferior	1	0.93	0.15	0.1	0.07
			Area	1	0.8742	0.024	0.011	0.0063
		2	Corte Superior	1	0.94	0.14	0.09	0.07
			Corte Inferior	1	0.92	0.16	0.11	0.08
			Area	1	0.8648	0.0224	0.0099	0.0056
		3	Corte Superior	1	0.93	0.15	0.11	0.07
			Corte Inferior	1	0.94	0.16	0.09	0.06
			Area	1	0.8742	0.024	0.0099	0.0042
		4	Corte Superior	1	0.94	0.17	0.14	0.08
			Corte Inferior	1	0.94	0.15	0.12	0.09
			Area	1	0.8836	0.0255	0.0168	0.0072
		5	Corte Superior	1	0.93	0.16	0.15	0.07
			Corte Inferior	1	0.92	0.17	0.11	0.08
			Area	1	0.8556	0.0272	0.0165	0.0056

FUENTE: elaboración propia.

Tabla N° 20. Control (-) Agua destilada.

Control (-)	Agua destilada	1	Corte Superior	1	0.98	0.93	0.9	0.83
			Corte Inferior	1	0.99	0.92	0.88	0.81
			Area	1	0.9702	0.8556	0.792	0.6723
		2	Corte Superior	0.99	0.97	0.94	0.91	0.85
			Corte Inferior	1	0.96	0.95	0.92	0.87
			Area	0.99	0.9312	0.893	0.8372	0.7395
		3	Corte Superior	0.99	0.97	0.92	0.89	0.84
			Corte Inferior	0.99	0.96	0.91	0.87	0.85
			Area	0.9801	0.9312	0.8372	0.7743	0.714
		4	Corte Superior	1	0.98	0.95	0.86	0.83
			Corte Inferior	0.99	0.97	0.93	0.88	0.81
			Area	0.99	0.9506	0.8835	0.7568	0.6723
		5	Corte Superior	1	0.99	0.93	0.91	0.86
			Corte Inferior	1	0.97	0.96	0.94	0.84
			Area	1	0.9603	0.8928	0.8554	0.7224

Toma de decisión

Como el nivel de significancia usado es de 0.05 y p hallado es menor a ese valor rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna, por lo declararemos la presencia de cicatrización con variabilidad entre grupos y dosis que se ha establecido la dependencia de las variables; es decir la cicatrización varía significativamente con el tiempo y dosis en la evaluación, encontrándose mayor cicatrización en el grupo A en dosis de 0.5mL. En la primera semana de tratamiento y mayor cicatrización en el grupo C en dosis de 0.5mL.en la última semana de tratamiento por lo tanto la cicatrización con mayor aceptación es del grupo C a 0.25mL.

4.1.8.1.3. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS ESPECÍFICA 3

La hipótesis específica 3 corresponde a:

“El gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens L.*) Y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera L. Burn*) tiene efecto cicatrizante en comparación con el cicatrin^R en ratas albinas”

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

Tabla N° 21. Resumen general entre grupos de tratamiento, días y concentración

Grupo	Dosis (xvol)(ml)	Area de cierre de herida (cm ²) Promedios ± D.S.				
		0 días	7 días	14 días	21 días	28 días
A	0.5	0.996 ± 0.005	0.91022 ± 0.027	0.56228 ± 0.069	0.26596 ± 0.035	0.07812 ± 0.020
	0.25	0.998 ± 0.004	0.935 ± 0.015	0.684 ± 0.029	0.387 ± 0.042	0.21292 ± 0.016
	0.125	0.998 ± 0.004	0.951 ± 0.010	0.685 ± 0.004	0.743 ± 0.026	0.60392 ± 0.031
B	0.5	1 ± 0.00	0.955 ± 0.015	0.679 ± 0.043	0.374 ± 0.067	0.166 ± 0.0277
	0.25	0.998 ± 0.004	0.958 ± 0.013	0.814 ± 0.031	0.585 ± 0.033	0.29026 ± 0.042
	0.125	0.996 ± 0.005	0.962 ± 0.008	0.880 ± 0.028	0.814 ± 0.020	0.66756 ± 0.030
C	0.5	0.992 ± 0.004	0.935 ± 0.011	0.726 ± 0.013	0.211 ± 0.006	0.0456 ± 0.008
	0.25	0.994 ± 0.005	0.953 ± 0.008	0.783 ± 0.021	0.292 ± 0.027	0.12944 ± 0.0143
	0.125	0.998 ± 0.004	0.970 ± 0.00	0.867 ± 0.037	0.673 ± 0.034	0.45064 ± 0.035
Control positivo	0.5	1.00 ± 1.00	0.856 ± 0.870	0.027 ± 0.025	0.017 ± 0.013	0.0056 ± 0.005
Control negativo	agua destilada	0.992 ± 0.008	0.949 ± 0.017	0.872 ± 0.025	0.803 ± 0.042	0.7041 ± 0.030

a) TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LAS MUESTRAS A, B Y C CON APLICACIÓN DE 0.5 mL

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	5	0.3906	0.07812	0.0004
Columna 2	5	0.8349	0.16698	0.0008
Columna 3	5	0.228	0.0456	7E-05
Columna 4	5	0.0289	0.00578	1E-06
Columna 5	5	3.5205	0.7041	0.0009

ANÁLISIS DE
VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probab.	Valor crítico para F
Entre grupos	1.65811283	4	0.414528207	949.85	0.00	2.866081402
Dentro de los grupos	0.008728244	20	0.000436412			
Total	1.666841074	24				

b) TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LAS MUESTRAS A, B Y C CON APLICACIÓN DE 0.25 mL

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0.25 A	5	1.0646	0.21292	0.0002567
0.25 B	5	1.4513	0.29026	0.0018057
0.25 C	5	0.6472	0.12944	0.0002065
c+	5	0.0289	0.00578	1.212E-06
c-	5	3.5205	0.7041	0.0009271

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probab.	Valor crítico para F
Entre grupos	1.40834738	4	0.352086845	550.62	0.00	2.87
Dentro de los grupos	0.01278884	20	0.000639442			
Total	1.42113622	24				

c) TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LAS MUESTRAS A, B Y C CON APLICACIÓN DE 0.125 mL

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0.125 A	5	3.0196	0.60392	0.000987232
0.125 B	5	3.3378	0.66756	0.000955223
0.125 C	5	2.2532	0.45064	0.001290613
c+	5	0.0289	0.00578	0.000001212
c-	5	3.5205	0.7041	0.000927135

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.63148774	4	0.407871935	490.06	0.00	2.866081402
Dentro de los grupos	0.01664566	20	0.000832283			
Total	1.6481334	24				

Se encontró 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 una respuesta significativa de acuerdo a cada dosis.

En comparación general el cierre de herida con el control positivo tiene valores porcentuales de acuerdo a cada dosis, posibilitando datos de significancia con el control negativo.

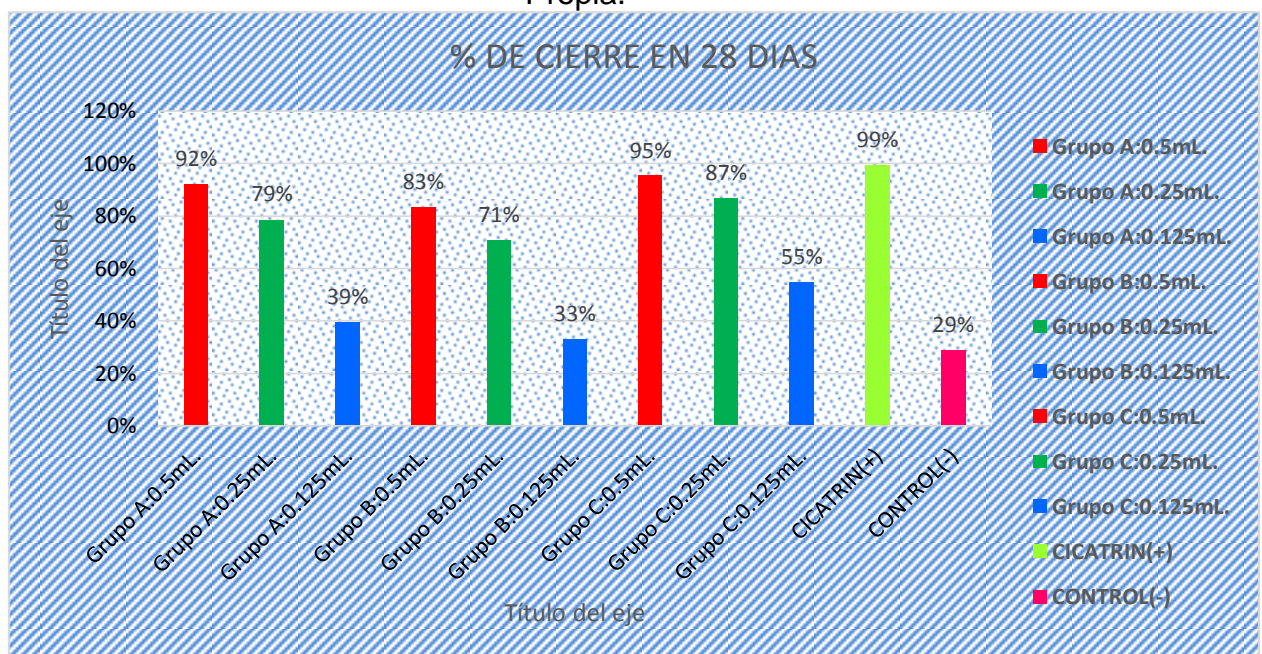
Donde los datos de mayor importancia farmacológica se encontraron de la siguiente manera.

Cicatrín alcanzó un cierre del noventa y nueve por ciento de la herida.

Grupo C a 0.5mL. Alcanzó un cierre del noventa y cinco por ciento de la herida.

Grupo A a 0.5mL. Alcanzó un cierre del noventa y dos por ciento de la herida.

Figura 39. Comparación general en porcentaje de cicatrización. Elaboración Propia.



4.2. Discusión de los Resultados

QUEIROLO P, et al. (2012) En su investigación "*Efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico de Aloe vera, L.sobre Streptococcus mutans*". El tamizaje fitoquímico determinó presencia de quinonas y flavonoides, en mayor proporción (+++), taninos y saponinas, en mediana proporción (++) y cumarinas fijas en poca proporción (+) en el extracto etanólico de Aloe vera.

En nuestra investigación, los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico para el extracto etanólico de ortiga y de extracto etanólico de sábila fueron:

Ortiga: Alcaloides (+++) En mayor proporción, Flavonoides (+++) En mayor proporción (+++) En mayor proporción la Sábila: Alcaloides (+++) En mayor proporción, Flavonoides (++) En menor proporción y Antraquinonas (++) en menor proporción

En la prueba de espectrofotometría UV-VISIBLE se determinó la presencia de flavonoides totales con un patrón que es la Quercetina, observada a 415nm. La cuantificación de flavonoides totales en la muestra de ambas plantas tenemos los siguientes resultados: 2.95mg. De Quercetina en 1 mL., de la muestra de ortiga. Y 0.07mg. De Quercetina en 1mL., en la muestra sábila.

Por lo tanto, se evidenció en los resultados del Screening fitoquímico la presencia de los metabolitos con actividad farmacológica, demostrando que la investigación fue positiva en la cicatrización con el cierre de heridas en las ratas albinas.

GUTIÉRREZ, N et al. (2015). En su investigación "*Efecto cicatrizante de Bidens pilosa (amor seco) sola y en asociación a Lippia nodiflora (tikil tikil) en animales de experimentación*". Se evaluó el efecto cicatrizante de *Bidens pilosa* (amor seco) sola y en asociación a *Lippia nodiflora* (tikil tikil) sobre heridas, se utilizó el test de cicatrización descrito por Howes, para heridas incisivas, se evaluó en comparación con (CICATRICURE®) la actividad cicatrizante. Al hacer el análisis de ANOVA se demostró la

eficacia cicatrizante a la concentración del 20% de amor seco y 30 % de Tikal aun nivel confianza del 0.05, Por lo que se concluye que el gel con extracto de amor seco al 20% es el de mayor eficacia cicatrizante a un nivel de confianza del 0.05 bajo un esquema experimental en ratas de laboratorio. (2).

El gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens L.*) y extracto etanólico de la sábila (*Aloe vera L. Burn*) posee efecto cicatrizante en ratas albinas. Utilizando el método descrito por Nayak y col, 2005, el gel C (diez por ciento de ortiga y veinte por ciento de sábila) a dosis de 0.5mL./día en 28 días alcanza un efecto de cierre de heridas al noventa y cinco por ciento en comparación con el Cicatrin que alcanza el noventa y nueve por ciento en este mismo periodo de tratamiento y alcanzo un nivel de 0.05 de confiabilidad seguida por el gel A (veinte por ciento de ortiga y diez por ciento sábila) con un porcentaje de noventa y do por ciento, lo que demuestra que hay confiabilidad de cicatrización en el grupo C y grupo A a la dosis más altas (0.5mL./día por 28 días). Con respecto a la tesis anterior solo posee 7 días de tratamiento lo cual no da una significancia dispersa de datos y una cicatrización completa por cierre total.

ALMONACID A, (2012) En su investigación "*Efecto antiinflamatorio y cicatrizante del extracto liofilizado de aloe vera (aloe vera (l) burm. f.) presentado en forma de gel farmacéutico*". Se preparó el Gel del extracto de Aloe vera al 20% que fue aplicado por vía tópica en 40 pacientes entre las edades 20 a 50 años, de ambos sexos La medición se realiza desde que el paciente llega por Emergencia (tópico) por efecto de un trauma accidental, primero se evalúa para el diagnóstico clínico de la inflamación leve menores de 3cm de diámetro y moderadas diámetro mayores a 3cm. Se controla mediante la observación ectoscópica la disminución del tamaño de la inflamación, cambio de color en forma diaria en el establecimiento de salud o en su domicilio, usando como material una regla graduada en cm la medida de la inflamación por su diámetro (centímetros). En los pacientes con contusiones leves tratados

con el Gel liofilizado de Aloe vera, la lesión remitió en 7 días en promedio frente a los controles que tardaron más de 10 días. En los pacientes con contusiones moderadas tratados con Gel liofilizado de Aloe vera, la lesión remitió en 7 a 10 días en promedio frente a los controles que tardaron más de 12 días. En los pacientes con heridas de piel leves tratados con Gel liofilizado de Aloe vera, la lesión remitió en 7 a 8 días en promedio frente a los controles que tardaron más de 10 días.

(5) el gel elaborado a base de extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de sábila (*Aloe vera* L. Burn) fue preparado a diferentes dosis y aplicado a diferentes concentraciones, en heridas causadas intencionalmente de un diámetro promedio y aplicado en un periodo de tiempo estimado se realizó una comparación con otro medicamento (Cicatrín) ya estudiado y con efectividad comprobada, a diferencia de la tesis en mención nuestros animales de experimentación no tomaron medicamentos que ayudan a la cicatrización como antibacterianos que es muy posible que en el hospital se hayan medicado por una indicación farmacológica lo cual no menciona en la tesis, alcanzamos una cicatrización del área en 28 días y el estudio HISTOPATOLÓGICO lo demuestra por aumento de reepitelización y aumento de colágeno simplemente con la ayuda del sistema inmunológico de los animales en experimentación.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- ❖ Durante el proceso experimental el gel a base de extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de sábila (*aloe vera* L. Burn) tiene actividad cicatrizante, en ratas, demostrando que las variabilidad de concentraciones nos da la dosis adecuada para el tratamiento.
- ❖ En el análisis fitoquímico (Screenning) se obtuvo la presencia de metabolitos secundarios de mucha importancia en la cicatrización, en caso de la ortiga se observó flavonoides, alcaloide y compuestos fenólicos, en la sábila se encontró alcaloides, flavonoides, taninos y antraquinonas, llegando a cuantificar flavonoides totales en la muestra de la ortiga un total de 2.94 mg/mL. De muestra en comparación con la Quercetina y 0.07mg/mL. Para la sábila en comparación con la Quercetina.
- ❖ En todas las dosis y concentraciones el gel a base de extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de sábila (*Alore vera* L. Burn) tiene actividad cicatrizante, la concentración del gel C (ortiga al diez por ciento y sábila al veinte por ciento) alcanzó el pico más elevado de cicatrización llegando al noventa y cinco por ciento de cierre de herida, en la concentración del gel A (ortiga veinte por ciento y sábila diez por ciento) llega a un pico de noventa y dos por ciento de cierre de herida, demostrando que hay significancia en comparación con

el centro positivo (+) Cicatrin^(R) que llegó al noventa y nueve por ciento del cierre de herida.

- ❖ El gel a base de extracto etanólico de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico de sábila (*aloe vera* L. Burn) tiene actividad cicatrizante en comparación con el control positivo (+) Cicatrin^(R) por vía tópica.

5.2. Recomendaciones

- ❖ Todo estudio de investigación posee vacíos que aún no se ha demostrado, este trabajo queda como antecedente para seguir estudiando dichas plantas mejorando las técnicas de experimentación para llegar a tener un producto de origen natural, darle mejor uso y con eficacia comprobada.
- ❖ Recomendamos realizar analizar cuantitativamente los metabolitos de importancia farmacológica, con los avances de la ciencia hoy se puede llegar a la estructura química del metabolito responsable de la acción terapéutica, y diseñar trabajos experimentales en pacientes con otro tipos de tratamientos para ver el grado de cicatrización.
- ❖ Se recomienda antes de realizar estudios de ambas plantas también se haga estudio el tipo de tierra que lo produce, ya que varían las especies de acuerdo al tipo de suelo, siembra, cosecha, etc. Al querer comercializar dicho producto se debe de manejar esos parámetros porque para el estudio las plantas se recogió del campo sin ningún cultivo ni sembrío estandarizado.
- ❖ Se recomienda realizar estudios de diferentes partes de la planta, ya que a las raíces, tallos, flores se le atribuye otras actividades terapéuticas empíricas.

BIBLIOGRAFÍA

1. GUTIÉRREZ, N et al. Efecto cicatrizante de *Bidens pilosa* (amor seco) sola y en asociación a *Lippia nodiflora* (tikil tikil) en animales de experimentación. {Tesis de Grao} Arequipa Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas Universidad Católica de Santa María -2014.
2. RAMOS N, Composición química, actividad antioxidante in vitro y evaluación cicatrizante in vivo del extracto metanólico de corteza de *brunfelsia grandiflora* D. Don “chiric sanango” {Tesis de Grado} Lima, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos- 2012.
3. MOREYRA P, et al. Evaluación del efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las partes aéreas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) en edema plantar inducido en animales de experimentación {Tesis de Grado} Arequipa, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas Universidad Católica de Santa María - 2013.
4. ALMONACID A, Efecto antiinflamatorio y cicatrizante del extracto liofilizado de Aloe Vera (*Aloe Vera* (L) burm. f.) presentado en forma de gel farmacéutico {Tesis de Pos-Grado} Lima, Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2012.
5. VASQUEZ J, Efecto antibacteriano del extracto hidroalcolico de *Aloe vera* sobre *Listeria monocytogenes* y *Pseudomonas aeruginosa*. [Tesis de Grado} Trujillo Facultad de Ciencias Biologicas,Universidad Nacional de Trujillo. 2014.
6. QUEIROLO P, et al. Efecto antimicrobiano in vitro del Extracto Etanólico de *Aloe vera*, L., Sobre *Streptococcus mutans* {Tesis de Grado} Iquitos

- Facultad de Odontología Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.2012.
7. Freire k, et al Uso de dos métodos de extracción fitoquímicos a base de Jengibre (*Zingiber officinale* L.), Oreganón (*Plectranthus amboinicus*) y Ortiga (*Urtica dioica*), para el control in vitro de la monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) {Tesis de Grado} Quevedo - Los Ríos – Ecuador Facultad de Ciencias Pecuarias Universidad Técnica Estatal de Quevedo 2017.
 8. ALLAICA N, Comparación del Efecto Cicatrizante de Tinturas elaboradas a base de Guarango (*Caesalpinia spinosa*) y Sangre de Drago (*Croton lechleri*) aplicados en ratones (*Mus musculus*) {Tesis de Grado} Riobamba – Ecuador Escuela de Bioquímica y Farmacia- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo 2015.
 9. LÓPEZ Y, Evaluación de la Toxicidad Aguda y Subaguda en ratones de los Extractos Hidroalcohólicos de las especies vegetales: *Urtica urens* L. (Ortiga) y *Piper elongatum* poir. (Matico),{Tesis de Grado} La Paz-Bolivia Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas Universidad Mayor de San Andrés 2012.
 10. REA K, Utilización de una crema a base de Ortiga (*Urtica urens*) como Cicatrizante en Cuyes (*Cavia porcellus*) {Tesis de Grado} Latacunga – Ecuador Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad Técnica de Cotopaxi 2016.
 11. CAÑIZARES A. Eficacia del gel casero de *Aloe vera* mas Propóleo al 5% al ser aplicado en la Cicatrización por segunda intención en Cobayos adultos machos y analizado mediante Microscopio Óptico{Tesis de Grado} Quito Facultad de Odontología Universidad Central del Ecuador 2015.
 12. QUIROZ R. Evaluación de la Actividad Cicatrizante de un Gel elaborado a base de los Extractos de Nogal (*Juglans neotrópica diels*), Ortiga (*Urtica dioica* L.), Sábila (*Aloe vera*), en ratones (*Mus musculus*) {Tesis de

- Grado} Riobamba – Ecuador Facultad de Ciencias Escuela Superior Politécnica de Chimborazo 2013.
13. COELLO R. Elaboración y Control de Calidad de Gel Cicatrizante a base de Sábila (*Aloe vera*) y Calendula (*Calendula officinalis*) {tesis de grado} Riobamba – Ecuador Facultad de Ciencias Escuela Superior Politécnica de Chimborazo 2012.
 14. María Morales López © Susaeta Ediciones, S. A. Tikal Ediciones Campezo, 13 28022 Madrid Fax: 913 009 110 tikal@susaeta.co
 15. Título original: Aloe vera (sábila): cultivo y utilización AA. VV., 2012 Editor digital: Titivillus
[http://assets.espdf.com/b/AA.%20VV_/Aloe%20vera%20\(sabila\)_%20cultivo%20y%20util%20\(10066\)/Aloe%20vera%20\(sabila\)_%20cultivo%20y%20u%20-%20AA.%20VV_.pdf](http://assets.espdf.com/b/AA.%20VV_/Aloe%20vera%20(sabila)_%20cultivo%20y%20util%20(10066)/Aloe%20vera%20(sabila)_%20cultivo%20y%20u%20-%20AA.%20VV_.pdf)
 16. Eshghi F, Hosseinimehr SJ, Rahmani N, Khademloo M, Norozi MS, Hojati O. Effects of Aloe vera cream on posthemorrhoidectomy pain and wound healing: results of a randomized, blind, placebo-control study. J Altern Complement Med 2010; 16: 647-650.
 17. Takahashi M, Kitamoto D, Asikin Y, Takara K, Wada K. Liposomes encapsulating Aloe vera leaf gel extract significantly enhance proliferation and collagen synthesis in human skin cell lines. J Oleo Sci 2009; 58: 643-650
 18. Alonso, Jorge. Tratado de fitofármacos y nutracéuticos, Corpus Editorial, 2007. ProQuest Ebook Central, <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouigvsp/detail.action?docID=3430597>. Created from bibliouigvsp on 2017-12-16 12:54:50.
 19. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. Gabriela Sepúlveda-Jiménez, Depto. de Biotecnología, Centro de Desarrollo de Productos. Bióticos del Instituto Politécnico Nacional, Apdo. Postal 24, Yautepec, Morelos, México. CP 62731; Helena Porta-Ducoing y Mario Rocha-Sosa.

20. Productos naturales vegetales, edited by Jorge Abel Ringuelet, D - Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, 2013. ProQuest Ebook Central,
<http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouigvsp/detail.action?docID=4499379>. Created from bibliouigvsp on 2017-12-16 06:44:19.
21. Zafra J. Aplicabilidad del Aloe vera en heridas , quemaduras y úlceras (tesis de grado) Jaen Facultad de Ciencias de la Salud Departamento de Enfermería Universidad de Jaén 2016.
22. Crespo M. (2006) Ortiga (*Urtica dioica* y *Urtica urens*) Plantas Medicinales para Enfermedades Reumáticas Centro de Investigación para Fitoterapia, Ed. Complutense, Madrid-España, pág. 39-49.
23. Álvares, Godoy, Esther, and Meléndez, José Manuel Pérez. Manual de análisis químico cuantitativo para ingenieros forestales, edited by Corría, Marianela Ramón, Editorial Félix Varela, 2005. ProQuest Ebook Central, <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouigvsp/detail.action?docID=3191614>.
Created from bibliouigvsp on 2017-12-18 07:53:18.
24. Tomlinson A, Ferguson M. Wound Healing. In: Paul G. Winyard DAW, ed. Inflammation Protocols. Totowa, New Jersey 2003:249-260
25. Dorsett Martin WA, Wysocki AB. Rat models of skin wound healing. Sourcebook of Models for Biomedical Research. 2008;VI:631-638.
26. Saulis A, Mustoe TA. 62 - Models of wound healing in growth factor studies. In: Wiley WS, Douglas WW, eds. Surgical Research. San Diego: Academic Press; 2001:857-873.
27. Greenhalgh DG, Warden GD. 32 - Wound care models. In: Wiley WS, Douglas WW, eds. Surgical Research. San Diego: Academic Press; 2001: 379
28. Zuluaga, M. Evaluación de la actividad cicatrizante de *Critoniella acuminata* en pequeños roedores [tesis de grado} Bogota-Colombia Facultad de Cienias Departamento de Farmacia Universidad Nacional de Colombia 2013.
29. Coronel S. at el. (2017) Efecto antiinflamatorio de un gel a base del extracto etanólico de las hojas de *Senna multiglandulosa* (Millhua

- tanquish) en ratas”[tesis de grado] Lima-Peru Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Universidad Inca Garcilaso de la Vega 2017.
30. Marks, Ronald, and Richard Motley. *Dermatología*, Editorial El Manual Moderno, 2012. ProQuest Ebook Central, <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouigvsp/detail.action?docID=3218180>. Created from bibliouigvsp on 2017-12-18 19:38:16.
 31. CAROL MATTSON POTH RN,MSN;PhD (fisiología). *Fundmentos de la fisiopatología*. 3ra. Edición. Wolters kluwer. Filadelfia – Pensilvania. 2013
 32. Goodman & Gilman. *Las Bases Farmacológicas de la terapéutica*. Vol II. 9na Edición. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 1996.
 33. Kirsner, R., Eaglstein, W. 1993. *El proceso de curación de las heridas*. Clínicas Dermatológicas. Ed. Interamericana, Madrid 11:-662.
 34. Schiro, J.A., Chan, B.M.C., Roswit, W.T. et al. 1991. Integrin $\alpha 2\beta 1$ (VLA-2) mediates reorganization and contraction of collagen matrices by human cells. *Cell* 67:403-10.11
 35. Germán Alfredo Ramírez Hernández *Fisiología de la Cicatrización Cutánea* *Physiology of cutaneous cicatrization*. <file:///C:/Users/User/Downloads/57-88-1-PB.pdf>
 36. *Fundamentos enfermeros en el proceso de administración de medicamentos*, edited by Saldaña, Diana Marcela Achury, et al., Editorial Pontificia Universidad Javeriana, 2012. ProQuest Ebook Central, <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouigvsp/detail.action?docID=4536732>. Created from bibliouigvsp on 2017-12-19 07:14:49.
 37. EcuRed **miércoles, 20 de diciembre de 2017** <https://www.ecured.cu/Neomicina>
 38. Adrià Aguilar Catalán Natàlia Coyo Asensio Aleix Giménez Terré *Bioética en Experimentación Animal*. Facultad de Veterinaria (UAB) 20/01/2012 <https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/85719/bioexpani.pdf>
 39. Cervantes C, Cu C, Serrano E, et al. *Incisión cutánea: Bisturí vs electrocauterio*. Estudio experimental en ratas. *Revista Medica del Hospital General de Mexico*, s.s. Ene.-Mar. 2002 Vol. 65, Núm. 1 pp 11 – 14.

40. **Cervantes C, Cu C, Serrano E, et al.** Incisión cutánea: Bisturí vs electrocauterio. Estudio experimental en ratas. Revista Médica del Hospital General de México, s.s. Ene.-Mar. 2002 Vol. 65, Núm. 1 pp 11 – 14.
41. Fitocosmética: Fito ingredientes y otros productos naturales, Eudeba, 2012. ProQuest Ebook Central, <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouigvsp/detail.action?docID=3203236>. Created from bibliouigvsp on 2018-02-12 04:33:38.
42. **Anaya, Lang, Ana Luisa.** Ecología química, Plaza y Valdés, S.A. de C.V., 2003. ProQuest Ebook Central, <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouigvsp/detail.action?docID=3221121>. Created from bibliouigvsp on 2018-02-11 23:47:18.
43. **VÉLEZ M.SERNA et al.** Identificación y Cuantificación de Antraquinonas y Cromonas en plantas de *Aloe vera* cultivadas en municipios de Risaralda por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia. (Tesis de Grado) Pereira Universidad Tecnológica de Pereira Facultad de Tecnología Química Industrial 2012.
44. **VELANDIA D.** evaluación de la actividad cicatrizante y caracterización fitoquímica de *dracontium croatii*.(tesis de grado) universidad nacional de colombia facultad de ciencias, departamento de farmacia Bogota d.c., noviembre de 2009

Anexo 9. Matriz de consistencia

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIBLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>GENERAL: ¿Tendrá efecto cicatrizante de un gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) en ratas albinas?</p> <p>ESPECIFICOS: -¿Qué metabolitos secundarios se encuentran presentes en mayor concentración en el extracto etanólico de la ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de la sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>)?</p> <p>-¿En qué concentración el gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) posee efecto cicatrizante ratas albinas?</p> <p>- ¿Cual es el porcentaje de cicatrización del gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) en comparación con el cicatrin^R?</p>	<p>GENERAL: Comprobar el efecto cicatrizante de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) en ratas albinas</p> <p>ESPECIFICOS -Identificar algunos metabolitos secundarios de mayor concentración en el extracto etanólico de la ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y del extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>).</p> <p>-Precisar la concentración del gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) que posee mayor efecto cicatrizante ratas albinas?</p> <p>-determinar el porcentaje de cicatrización del gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) en comparación con el cicatrin^R en ratas albinas?</p>	<p>GENERAL: El gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de la sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) posee efecto cicatrizante en ratas albinas.</p> <p>ESPECIFICOS: - Existen metabolitos secundarios en el extracto etanólico de la ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>).</p> <p>- Existe una concentración del gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) que posee mayor efecto cicatrizante ratas albinas?</p> <p>-El gel a base de metabolitos secundarios del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) tiene efecto cicatrizante en comparación con el cicatrin^R en ratas albinas?</p>	<p>VI. GEL A BASE DE EXTRACTO ETANÓLICO DE ORTIGA (<i>Urtica Urens L.</i>) Y EXTRACTO ETANÓLICO DEL MUCILAGO DE SABILA (<i>Aloe vera L. Burn</i>)</p> <p>VD.</p> <p>EFECTO CICATRIZANTE</p>	<p>VI FITOQUIMICO Y GALÉNICO</p> <p>FARMACOLÓGICO</p>	<p>VI. identificación de metabolitos secundarios: Gel al 20% y 10% Gel al 15% y 15% Gel al 10% y 20% Cicatrin Agua destilada.</p> <p>Cambios en la disminución de la herida: Tamaño medido con un vernier calibrado.</p>	<p>DISEÑO Experimental – Longitudinal TIPO : Aplicada NIVEL: Explicativo</p> <p>POBLACIÓN DE MUESTRA: La muestra está conformado por 60 ratas albinas evaluadas.</p> <p>INSTRUMENTOS Y TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS: TÉCNICA: Observación estructurada sin participación.</p> <p>INSTRUMENTO: Ficha de observación Ad-hoc</p> <p>PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS: Análisis descriptivo e inferencial con programa ANNOVA y análisis de DUNNET.</p>

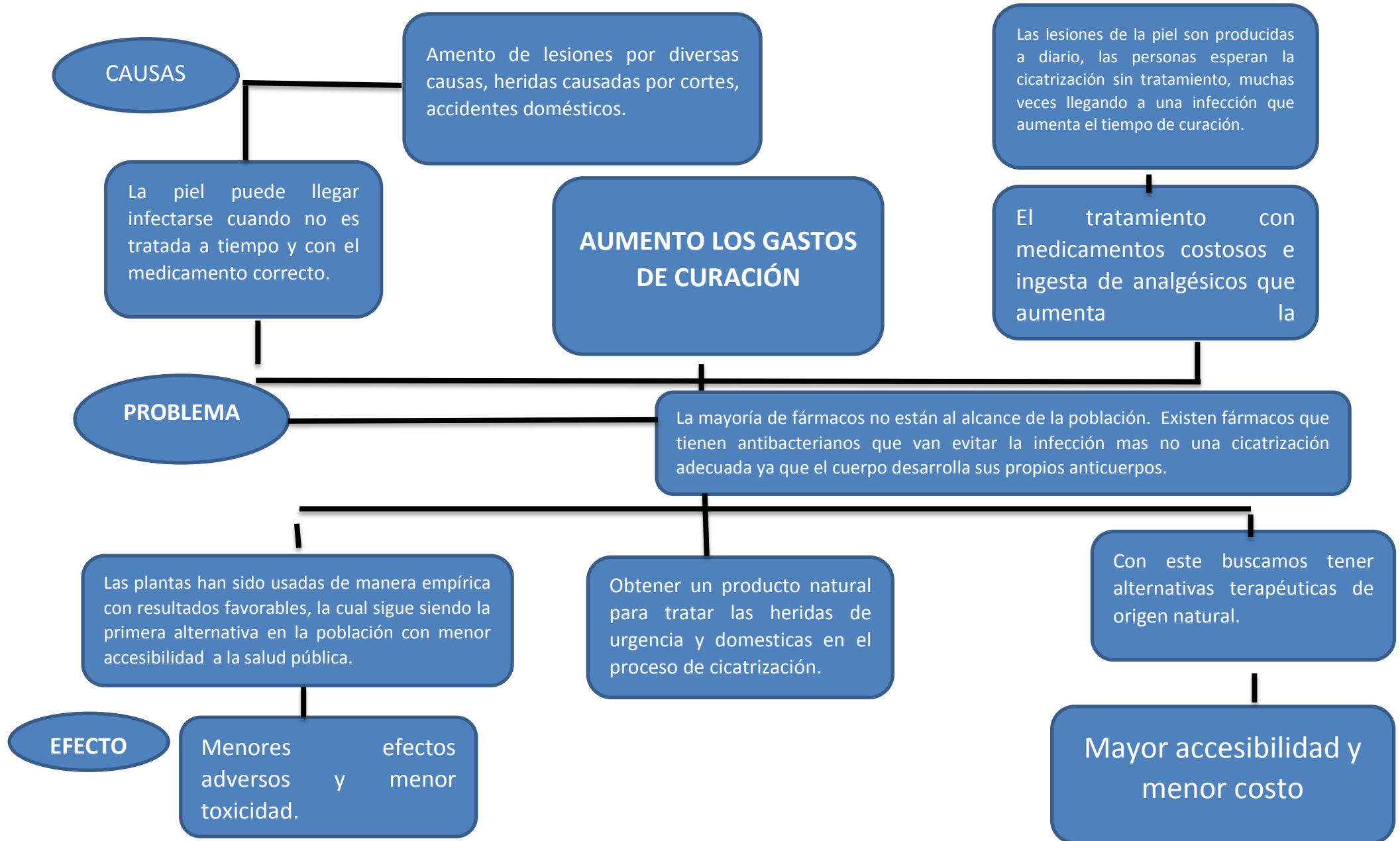
Anexo 10 Matriz de operacionalización de variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍTEMS	FUENTE	INSTRUMENTO
<p align="center">VI:</p> <p align="center">Gel a base de extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico del mucilago de sábila (<i>aloe vera L. Burn</i>)</p>	<p>Fitoquímica y galénica</p>	<p align="center">Identificación metabolitos secundarios.</p> <p align="center">Evaluar la concentración del gel con efecto cicatrizante.</p>	<p align="center">Gel al 20% y 10%</p> <p align="center">Gel al 15% y 15%</p> <p align="center">Gel al 10% y 20%</p> <p align="center">Agua destilada.</p> <p align="center">Cicatrín^R</p> <p align="center">Extracto puro.</p>	<p>Tratamiento administrado por el investigador la variabilidad se observara en concentración y dosis diarias.</p>	<p>Ficha de Observación Ad-hoc</p>
<p align="center">VD.</p> <p align="center">Efecto cicatrizante.</p>	<p>Farmacológico</p>	<p>Disminución del tamaño de herida realizada en el dorso, midiendo con un vernier calibrado.</p>	<p>De 1cm x 1cm de diámetro.</p>	<p>Pata de cada una de las ratas en las que se realizó la experimentación</p>	<p>Ficha de Observación Ad-hoc</p>

Anexo 11. Formulación del problema de investigación.

ÁREA	Farmacología, farmacognosia, farmacotécnica.
CAMPO	Ensayo pre-clínico en laboratorios de especialidad.
TEMA GENERAL	Efecto cicatrizante.
TEMA ESPECIFICO	“Efecto cicatrizante del gel a base del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) tiene efecto cicatrizante en comparación con el cicatrin ^R en ratas albinas”
ESPECIFICACIONES DEL TEMA	<p>“Existen algunos metabolitos secundarios en mayor concentración, en el extracto etanólico de la ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) Y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) con efecto cicatrizante en comparación con el cicatrin^R en ratas albinas”.</p> <p>“Existe una concentración y dosis adecuada del gel a base del extracto etanólico de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) Y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) con efecto antiinflamatorio en ratas.”</p> <p>“Existen algunos metabolitos secundarios en mayor concentración, en el extracto de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) que tenga efecto cicatrizante”</p>
PROBLEMA A INVESTIGAR.	¿El gel a base del extracto etanólico de las hojas de ortiga (<i>Urtica urens L.</i>) y extracto etanólico de sábila (<i>Aloe vera L. Burn</i>) tendrá efecto cicatrizante en ratas albinas?

Anexo 12. Análisis del problema de investigación



Anexo 13. Instrumento de Recolección de datos.



Universidad
Inca Garcilaso de la Vega
Nuevos Tiempos. Nuevas Ideas

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LOS ANIMALES (RATAS)

“EFECTO CICATRIZANTE DE UN GEL A BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE ORTIGA (*Urtica urens* L.) Y EXTRACTO ETANÓLICO DEL MUCILAGO DE LA SÁBILA (*Aloe vera* (L) Burn.) EN RATAS ALBINAS”

INSTRUCCIONES:

Para realizar la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático. Si se siente cansado, estresado o enfermo no debería realizar dicha observación. Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad. En el caso de no tener la seguridad sobre la medición de alguna unidad de análisis, descartar su evaluación. Registrar los datos sin borrones ni enmendaduras ni manchas. Tachar los espacios donde no necesita rellenar los datos con una línea.

a) Datos generales

NÚMERO DE FICHA: **EDAD:** **SEXO:** macho hembra

PESO: **COLOR:**

RAZA:.....

b) Datos específicos-

TRATAMIENTO EVALUADO

Control (-) Control (+) gel al 20-10% gel al 15-15% gel al 10-20% gel puro

MOMENTO DE EVALUACIÓN					
	0 DÍAS	7 DÍAS	14 DÍAS	21 DÍAS	28 DÍAS
TAMAÑO DE HERIDA	-----	-----	-----	-----	-----

Anexo 14. Juicios de Expertos



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEÚTICAS Y BIQUÍMICA

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS

EFFECTO CICATRIZANTE DE UN GEL A BASE DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE ORTIGA (*Urtica urens* L.) Y EXTRACTO ETANOLICO DEL MUCILAGO DE SÁBILA (*Aloe vera* L. *Burn*) EN RATAS ALBINAS

Una vez revisado el instrumento es valioso su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE:

50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100

- 1.- ¿En qué porcentaje estima que el uso de este instrumento se logran los objetivos propuestos?..... () () () () () () (X)
- 2.- ¿En qué porcentaje considera que los ítems se refieren a los conceptos de nuestro tema?..... () () () () (X) () ()
- 3.- ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr un resultado positivo?..... () () () () () () (X)
- 4.- ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento Son viables para la ejecución del proyecto?..... () () () () (X) () ()
- 5.- ¿En qué porcentaje de los ítems considera Ud. Una Secuencia lógica y sentido ?..... () () () () () () (X)
- 6.- ¿En qué porcentaje valora Ud. Que con este instrumento Se obtendrá resultados similares si se aplicara en otras Muestras?..... () () () () () () (X)

SUGERENCIAS:

1. ¿considera que debería agregarse algunos ítems para la mejora de resultados?.....
2. ¿considera que algunos de los ítems debería eliminarse porque no es representativa?.....
3. ¿Qué ítems considera que debería reformularse o precisar mejor?.....

Fecha:.....

Validado por:.....

Firma:.....

Ms. Pedro Jaento
E.O.F.P. 2197



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEÚTICAS Y BIQUÍMICA

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO
FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS

EFFECTO CICATRIZANTE DE UN GEL A BASE DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE ORTIGA (*Urtica urens* L.) Y EXTRACTO ETANOLICO DEL MUCILAGO DE SÁBILA (*Aloe vera* L. *Burn*) EN RATAS ALBINAS

Una vez revisado el instrumento es valioso su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE:
50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100

- 1.- ¿En qué porcentaje estima que el uso de este instrumento se lograran los objetivos propuestos?..... () () () () ()
- 2.- ¿En qué porcentaje considera que los ítems se refieren a los conceptos de nuestro tema?..... () () () () ()
- 3.- ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr un resultado positivo?..... () () () () ()
- 4.- ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento Son viables para la ejecución del proyecto?..... () () () () ()
- 5.- ¿En qué porcentaje de los ítems considera Ud. Una Secuencia lógica y sentido ?..... () () () () ()
- 6.- ¿En qué porcentaje valora Ud. Que con este instrumento Se obtendrá resultados similares si se aplicara en otras Muestras?..... () () () () ()

SUGERENCIAS:

1. ¿considera que debería agregarse algunos ítems para la mejora de resultados.....
2. ¿considera que algunos de los ítems debería eliminarse porque no es representativa.....
3. ¿Qué ítems considera que debería reformularse o precisar mejor?.....

Fecha: 18-Enero-2018

Validado por: Mg. Dr. Evelyn A. Carrero P.

Firma: [Signature]

Anexo 15. Matriz de validación por juicio de expertos.



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Matriz de Validación de Contenido por Juicio de Expertos de la Ficha de Observación Ad-Hoc para la Recolección de Datos

“EFECTO CICATRIZANTE DE UN GEL A BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE ORTIGA (*Urtica urens* L.) Y EXTRACTO ETANÓLICO DEL MUCILAGO DE LA SÁBILA (*Aloe vera* L. Burn.) EN RATAS ALBINAS”

JUEZ VALIDADOR	EFFECTIVIDAD	PERTINENCIA	SUFICIENCIA	VIABILIDAD	SECUENCIALIDAD	REPETITIVIDAD	TOTAL
DR. HENRRY SAM MONTELLANOS CABRERA	100	90	100	100	100	100	97%
DR. CARLOS ALFREDO CANO PEREZ	100	100	100	100	100	100	100%
DR. PEDRO JACINTO HERVIAS	100	100	90	100	100	100	97%
	100%	97%	97%	100%	100%	100%	98%
INSTRUMENTO VALIDADO (>90%)					LIMA DICIEMBRE DEL 2017		

Anexo 16. Certificado de la sábila.



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



“Año del Buen Servicio al Ciudadano”

CONSTANCIA N°241-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 (hojas) recibida de **Julio Constantino LOPEZ PARRA**, estudiante de la Facultad de Ciencias Farmacológicas y Bioquímica, de la Universidad Inca Garcilaso De la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Aloe vera*** (L) Burn. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: LILIOPSIDA

SUBCLASE: LILIIDAE

ORDEN: LILIALES

FAMILIA: LILIACEAE

GENERO: *Aloe*

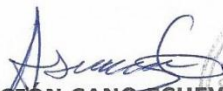
ESPECIE: *Aloe vera* (L) Burn.

Nombre vulgar: “sábila”

Determinado por Mg. María Isabel La Torre Acuy

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

Lima, 30 de octubre de 2017


Mag. ASUNCIÓN CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb

Anexo 17. Certificado de Ortiga.



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



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N°242-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 (rama fértil) recibida de **Kerry Jheffner CELESTINO MALLQUI**, estudiante de la Facultad de Ciencias Farmacológicas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ha sido estudiada y clasificada como: ***Urtica urens L.***, tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: HAMAMELIDAE

ORDEN: URTICALES

FAMILIA: URTICACEAE

GENERO: *Urtica*

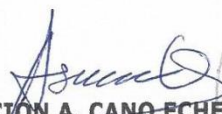
ESPECIE: *Urtica urens L.*

Nombre vulgar: "ortiga"

Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

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

Lima, 30 de octubre de 2017


Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb

Anexo 18. Certificado de compra de animales y alimentación



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
Bioterio - Vicerrectorado de Investigación

CERTIFICADO

San Martín de Porres, 13 de noviembre de 2017

Mediante la Presente se certifica que las 60 ratas albinas (*Rattus norvegicus*), de la cepa Holtzman, machos, con un promedio de 260g, adquiridos el 13 de noviembre de 2017, por El Laboratorio de Control de Calidad - UPCH, están en perfecto estado sanitario y fisiológico, para ser utilizada en cualquier protocolo Biomédico.

Atentamente;



Dr. CHRISTIAN PITOT ALVAREZ
Jefe de Boterio
LID - UPCH
C.M.V. 5985

Av. Honorio Delgado 430, Lima 31. Apartado postal 4314, Lima 100
Teléfono: (511) 319-0000 anexo: 2710
E-mail: Christian.pitot@upch.pe

Contenido de la alimentación

RATONES BIOTERIO
La Molina



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos

ALIMENTO PARA RATONES PESO NETO 40 kg

VALOR NUTRICIONAL		
E. Metabolizable (Mcal/kg)		2,9
Proteína (% mín)		17
Lisina (% mín)		0,92
Met - Cist. (% mín)		0,98
Grasa (% mín)		6
Calcio (% mín)		0,63
Fósforo disponible (% mín)		0,37
Fibra (% máx)		4
Humedad (% máx)		12

CARACTERÍSTICAS

- Alimento diseñado para ratones de laboratorio (Crecimiento / Reproducción).
- Favorece el desarrollo de una flora intestinal adecuada.
- Condición óptima de pH estomacal
- Diámetro de pellets 8,0 mm
- Longitud de pellets 6,0 - 8,0 mm

Producción: 30 NOV 2017
Vencimiento: 30 ENE 2018
Lote: 7131 - 17

INGREDIENTES:
Harina de maíz, torta de soya 48, harina integral extruida de soya, subproductos de molinería de trigo, aceite vegetal, carbonato de calcio, fosfato dicálcico, cloruro de colina 60%, cloruro de sodio, aminoácidos sintéticos, premezcla vitaminas - minerales, antioxidantes, antifúngicos.

CONSERVAR EN UN LUGAR LIMPIO, FRESCO, SECO Y EVITANDO EL CONTACTO CON EL PISO
Av. La Molina s/n - La Molina Telefax: 348-1524 proalimentos@lamolina.edu.pe

Anexo 19. Diferentes procesos del trabajo de tesis.

a) ORTIGA.



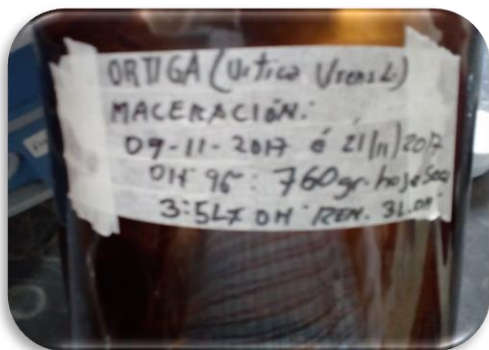
b) SÁBILA:



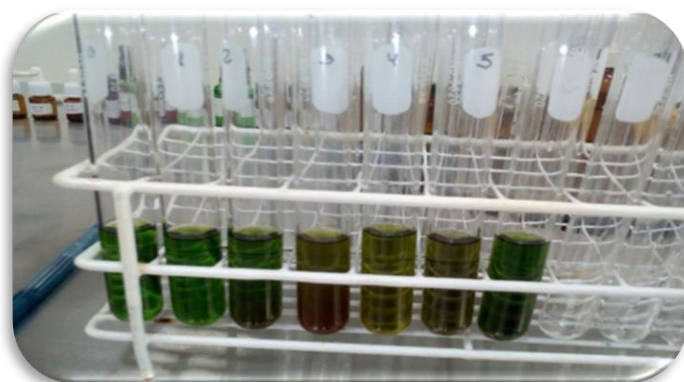
C) OBTENCIÓN DEL EXTRACTO:



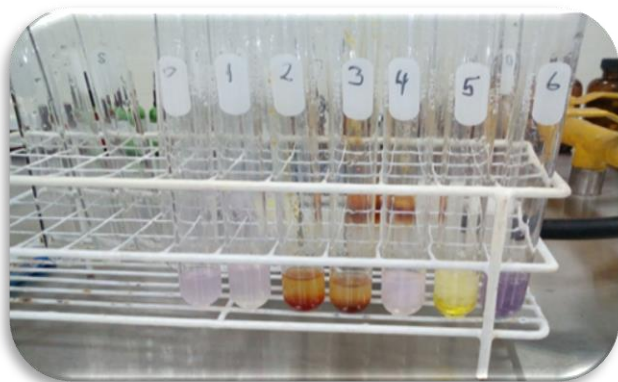
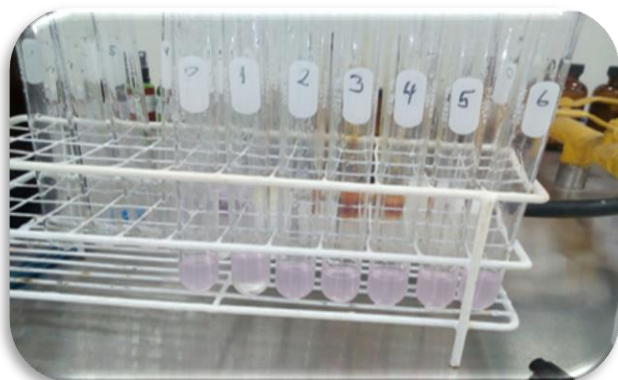
d) MACERADO DE ORTIGA Y EXTRACTO SECO.



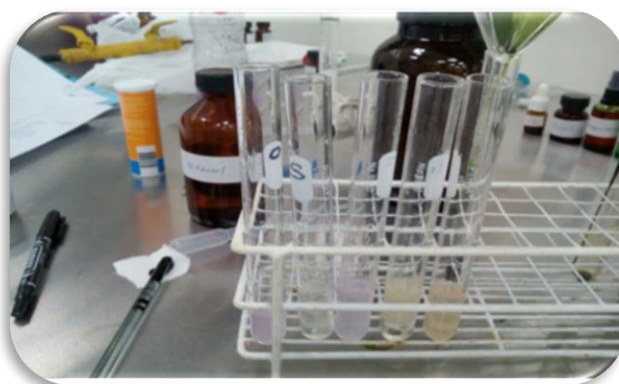
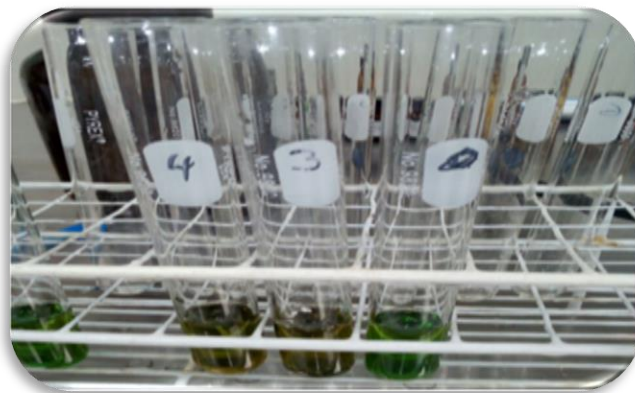
e) Screening Fitoquímico del extracto de "Ortiga" - Alcaloides



f) Screening Fitoquímico del extracto de “Sábila” - Alcaloides



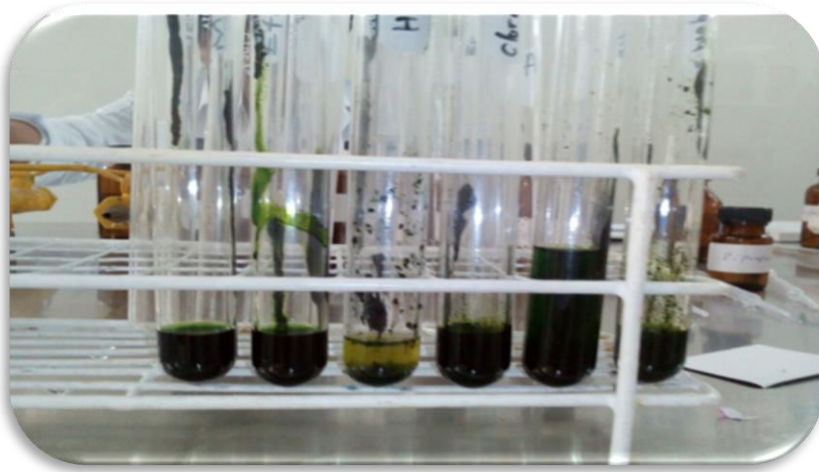
g): Screening Fitoquímico del extracto de “Ortiga” y Sábila” - Flavonoides



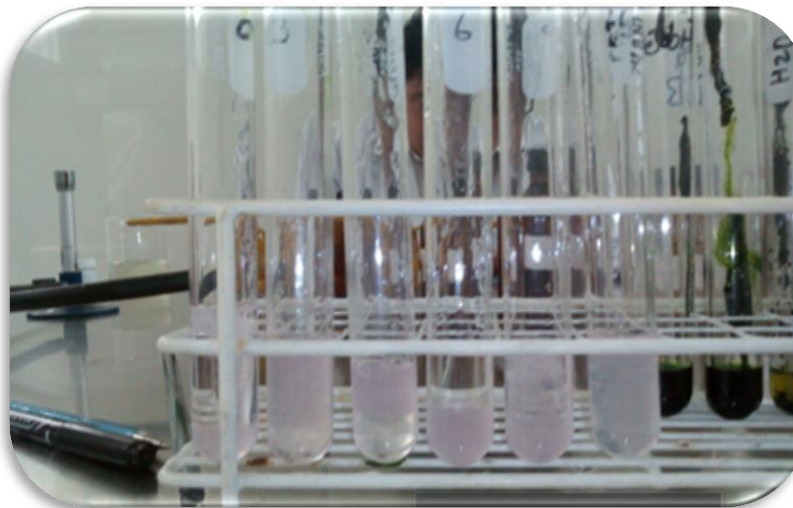
h) Screening Fitoquímico del extracto de “Ortiga” y Sábila” – Cumarinas Volátiles



i) Prueba de Solubilidad del extracto de “Ortiga”



j) Prueba de Solubilidad del extracto de “Sábila”



Anexo 20. Cromatografía en capa fina del extracto de “ortiga” y sábila” - flavonoides



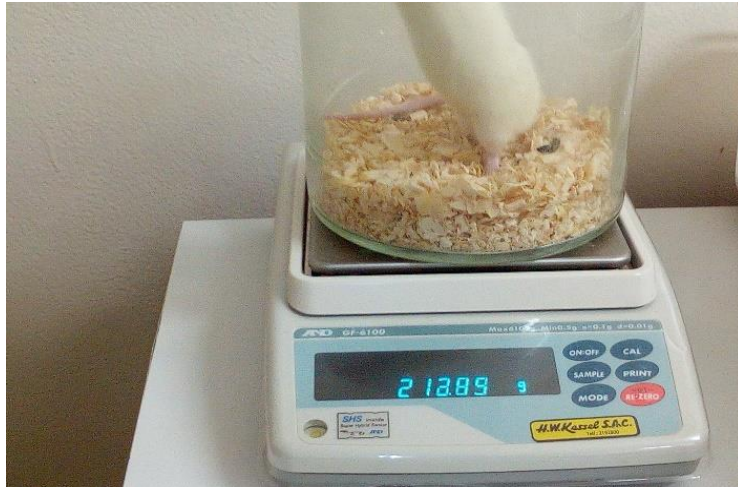


**Anexo 21. Cromatografía en capa fina del extracto de “sábila” -
antraquinona**



ANEXO 14: TRABAJOS DE EXPERIMENTACIÓN EN EL BIOTERIO DE EXPERIMENTACIÓN.

Pesado de los animales



Aplicación de anestésico y sedante.



anestésicos y sedantes usados en experimentación



Depilación de los animales de experimentación.



Depilación de los animales de experimentación.



Marcación de la zona de escisión.



Aplicación del gel a diferentes dosis a los animales de experimentación.



Animales después de 28 días de experimentación: preparación de los envases con formol 10% para los cortes histopatológicos.



Cortes de las heridas para el examen histopatológico



frascos con cortes histopatológicos.



Fin de la experimentación:



Sacrificio de los animales de experimentación:

