

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**“EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO Y FRACCIONES (CLOROFORMO, ACETATO
DE ETILO Y METANOL) DE CORTEZA DE *Ficus citrifolia* Mill EN
RATONES ALBINOS”**

Tesis para optar al título profesional de Químico
Farmacéutico y Bioquímico

Tesista: Bach. Fernández Flores, Javier

Asesor: Mg. Q.F. Herrera Hernández, Nora Gabriela

LIMA – PERÚ

2019

DEDICATORIA

Para mis amados padres José E. y Saara por su apoyo incondicional permanente, consejos y dirección durante mi formación personal y profesional. Es para mí una bendición tenerlos con vida y poder dedicar con mucho cariño el presente trabajo de investigación.

Para mis hermanos (José H, Noriel, Nelber, Wilmer, Neire) y hermanas (Elisa, Insolina, Maximira y Griselda) por el cariño, soporte y comprensión en este periodo de formación; igualmente, para mis sobrinos Yanira, Anthony, Camila y Jhon.

Para mis abuelos Evaristo y Victoria, por transmitirme en vida grandes consejos, inculcarme valores desde niño y ahora desde el cielo me cuidan y protegen.

Para mis tíos (as) Juan, Cristobal, Juanita, Emiliana, María, Ramón y Valeria en el cielo, por sus sabios consejos y entusiasmarme para continuar a paso firme esta maravillosa experiencia.

Para mis primos (as) Helder, Marcelo, Ronal, Joiler, Senovio, Reinerio, Doraliza, Flor, Berbelinda, Yovana, Luz por el cariño y afecto familiar desde siempre. Asimismo, para mis amigos Jamer, Elizabeth y Pamela por ofrecerme su amistad y compartir gratas experiencias en esta etapa universitaria.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer de manera especial a la Mg.Q.F. Nora Herrera Hernández, directora del grupo de investigación de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega y asesor del presente trabajo de investigación, por permitirme ser miembro de este extraordinario grupo.

A nuestra alma mater, la Universidad Inca Garcilaso de la Vega por dejarnos utilizar los laboratorios y equipos con el fin de realizar la investigación.

Al Dr. Jorge Arroyo Acevedo y a los trabajadores del bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) por siempre brindarnos su apoyo.

Asimismo, quiero darle las gracias al Dr. José Ernesto Ruez González, jefe del Instituto de Patología de la Facultad de Medicina de la UNMSM, por su apoyo y orientación en el desarrollo del estudio histopatológico.

A mis compañeros del grupo de investigación Fernando, Ana, Jilmer, Denisse, Dick, ya que sin su apoyo no se hubiesen podido realizar las investigaciones de algunas especies del género *Ficus*.

A los profesores Dr. Q.F. Pablo Enrique Bonilla Rireva, Mg. Q.F. Orlando Acosta Cornejo, Mg. Q.F. Oscar Bernuy Flores López y Mg. Q. Rodolfo Pumachagua Huertas por sus observaciones y sugerencias en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Finalmente, agradecer a todos los profesores de nuestra querida Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica que nos brindaron sus conocimientos en las diversas ramas de nuestra carrera profesional.

ABREVIATURAS

HPLC: cromatografía líquida de alta performance

BAW: n- butanol-ácido acético glacial-agua

CCF: cromatografía de capa fina

H₂O: agua

CF: cloroformo

AcOEt: acetato de etilo

MeOH: metanol

IC50: concentración inhibitoria máxima media

TP: Tiempo de Protrombina

TTPa: Tiempo Parcial de Tromboplastina activada

OPS: Organización Panamericana de la Salud

OMS: Organización Mundial de la Salud

CSS: Centros Sociosanitarios

FC: fracción cloroformo

FAE: fracción acetato de etilo

FM: fracción metanol

EHA: extracto hidroalcohólico

ADN: ácido desoxirribonucleico

PABA: ácido p - aminobenzoico

Rf: Factor de retención

UV: ultravioleta

2,4-DNFH: 2,4-dinitrofenilhidrazina

SPSS: Statistical Package for the Social Science

TNT- α : factor de necrosis tumoral alfa

ÍNDICE

Acta de sustentación

Dedicatoria

Agradecimiento

Abreviaturas

Índice de tablas

Índice de figuras

Índice de anexos

Resumen

Abstract

Página

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2. Formulación del problema.....	4
1.2.1. Problema general.....	4
1.2.2. Problemas específicos.....	4
1.3. Objetivos.....	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. Justificación e importancia del estudio.....	5
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes del estudio	6
2.1.1. Nacionales.....	6
2.1.1. Internacionales.....	8
a. <i>Ficus citrifolia</i> Mill	8

b. Otras especies	9
2.2. Bases teóricas.....	14
2.2.1. <i>Ficus citrifolia</i> Mill	14
a. Características generales	14
b. Diversidad y hábitat.....	14
c. Clasificación Taxonómica	15
d. Nombres vulgares	15
e. Uso y forma de uso	16
f. Metabolitos secundarios con efectos relacionados a cicatrización extraídos del género <i>Ficus</i>	17
2.2.2. Piel.....	27
2.2.3. Herida	29
2.2.4. Proceso de reparación o cicatrización de heridas	29
2.2.5. Factores que influyen en la cicatrización	31
2.2.6. Tipos de cicatrización	32
2.2.7. Tratamiento de heridas.....	33
2.2.8. Sulfadiazina de plata.....	34
2.2.9. Fundamentos de métodos fitoquímicos	36
2.2.10. Fundamentos de métodos farmacotécnicos	41
2.2.11. Fundamentos de métodos farmacológicos	41
2.3. Hipótesis.....	42
2.3.1. Hipótesis general	42
2.3.2. Hipótesis específicas	42
2.4. Variables	42
2.4.1. Tabla de Operacionalización de Variables	42
2.5. Marco conceptual	43
CAPITULO III: MÉTODO	45

3.1. Tipo de estudio	45
3.2. Diseño a utilizar	45
3.3. Población	45
3.4. Muestras	45
3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	45
3.5.1. Equipos, materiales y reactivos.....	45
3.5.2. Obtención y tratamiento de la droga vegetal.....	49
3.5.3. Obtención del extracto crudo hidroalcohólico de <i>Ficus citrifolia</i> Mill	49
3.5.4. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico.....	50
3.5.5. Fraccionamiento del extracto hidroalcohólico por reparto	50
3.5.6. Cromatografía de capa fina (CCF) de las fracciones (FC, FAE y FM)	50
3.5.7. Elaboración de gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (FC, FAE y FM) de <i>Ficus citrifolia</i> Mill	51
3.5.8. Ensayo del efecto cicatrizante de herida por método tensiométrico	52
3.5.9. Estudio histopatológico.....	53
3.5.10. Instrumentos para la recolección de datos.....	54
3.5.11. Validación de instrumentos.....	55
3.6. Procesamiento de datos	55
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	57
4.1. Presentación de resultados.....	57
4.1.1. Resultados de fraccionamiento por reparto del extracto de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.....	57
4.1.2. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico.....	57
4.1.3. Resultados de cromatografía de capa fina (CCF).....	58
4.1.4. Resultados de elaboración de gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (FC, FAE y FM) de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.....	58
4.1.5. Resultados del efecto cicatrizante del gel del extracto hidroalcohólico y fracciones de <i>Ficus citrifolia</i> Mill	59
4.2. Contrastación de Hipótesis	66

4.3. Discusión de resultados	68
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	72
5.1. Conclusiones	72
5.2. Recomendaciones	72
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
ANEXOS	84

ÍNDICE DE TABLAS

Página

Tabla 1. Operacionalización de variables e indicadores	43
Tabla 2. Sistemas de disolventes para la separación de metabolitos secundarios y reveladores de cromatografía.....	51
Tabla 3. Formulación para la preparación de gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (FC, FAE, FM) de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.....	52
Tabla 4. Grupos del ensayo experimental y tratamientos.....	53
Tabla 5. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en H ₂ O (FH).....	57
Tabla 6. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en H ₂ O acidificado.....	57
Tabla 7. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en MeOH (FM).....	58
Tabla 8. Resultados del análisis de metabolitos secundarios por cromatografía de capa fina (CCF).....	59
Tabla 9. Resultados de la fuerza de tensión expresado en gramos de arena necesario para la apertura de heridas del ratón.....	60
Tabla 10. Resultados de las pruebas de normalidad	60
Tabla 11. Resultados del análisis estadístico descriptivo	61
Tabla 12. Resultado de la prueba de homogeneidad de varianzas.....	61
Tabla 13. Resultado de prueba de ANOVA unidireccional.....	61
Tabla 14. Efecto cicatrizante del gel de extracto hidroalcohólico y fracciones de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.....	62
Tabla 15. Histopatología de los tratamientos y controles (positivo y negativo)	63

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Ficus citrifolia</i> Mill	16
Figura 2. Estructura de los compuestos aislados de hojas de <i>F. sycomorus</i>	18
Figura 3. Compuestos aislados de <i>Ficus retusa</i> L. "variegata"	19
Figura 4: (a) Alcaloides identificados en extractos de hojas de <i>F. benjamina</i>	21
Figura 4: (b) Alcaloides identificados en extractos de hojas de <i>F. benjamina</i>	22
Figura 4: (c) Los alcaloides identificados en los extractos de corteza de <i>F. benjamina</i>	23
Figura 5. Estructura química de los compuestos aislados de la corteza del tallo de <i>F. drupacea</i> L.....	24
Figura 6. Estructuras químicas de lupeol, acetato de lupeol y β -sitosterol. extraídos de <i>F. racemosa</i>	25
Figura 7. Fórmulas estructurales de los compuestos aislados de <i>Ficus racemosa</i> y <i>Ficus religiosa</i>	26
Figura 8. Estructura de la piel.....	27
Figura 9. Estructura y componentes celulares de respuesta inmune de la piel.	28
Figura 10. Fase inflamatoria después de un corte cutáneo; Hemostasia e invasión de células inflamatorias	30
Figura 11. Fase proliferativa; organización del trombo, secreción de factores de crecimiento, síntesis de colágeno III y comienzo de la angiogénesis.....	31
Figura 12. Fase de remodelación; regenerador los procesos se desvanecen y son seguidos por la reorganización del tejido conectivo y la respuesta contráctil	¡Error! Marcador no definido.
Figura 13. Cicatrización por primera y segunda intención	33
Figura 14. Fórmula química de Sulfadiazina de plata	34
Figura 15. Porcentaje de la fuerza de tensión del efecto cicatrizante de herida por incisión del gel del extracto hidroalcohólico (EHA), fracción cloroformo (FC), fracción	

acetato de etilo (FAE), fracción metanol (FM) de <i>Ficus citrifolia</i> Mill y crema sulfadiazina de plata (SP).....	62
Figura 16. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con gel a 1% del extracto hidroalcohólico de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.....	63
Figura 17. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con gel a 0,5% de fracción cloroformo de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.....	64
Figura 18. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con gel a 0,5% de fracción acetato de etilo de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	64
Figura 19. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con gel a 0,5% de fracción metanol de <i>Ficus citrifolia</i> Mill	65
Figura 20. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con crema de sulfadiazina de plata a 1% (control positivo)	65
Figura 21. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con base de gel (control negativo).....	66

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
ANEXOS.....	84
Anexo 1: Matriz de consistencia	84
Anexo 2: Operacionalización de variables e indicadores.....	85
Anexo 3: Certificado de identificación botánica de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.....	86
Anexo 4. Ficha de recolección de datos	87
Anexo 5. Validación del instrumento de recolección de datos	89
Anexo 6. Testimonios fotográficos de tratamiento de la muestra y del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico	92
Anexo 7. Testimonios fotográficos del fraccionamiento por método líquido – líquido o reparto.....	93
Anexo 8. Testimonios fotográficos de cromatografía de capa fina	93
Anexo 9. Testimonios fotográficos de preparación del gel con extracto hidroalcohólico y fracciones.....	96
Anexo 10. Testimonios fotográficos de ensayo del efecto cicatrizante por método tensiométrico ..	97
Anexo 11. Testimonios fotográficos del estudio histopatológico	98
Anexo 12. Prueba estadística HSD Tukey para subconjuntos homogéneos.....	98
Anexo 13. Prueba estadística de comparaciones múltiples HSD Tukey.....	99
Anexo 14. Certificado sanitario de Ratones albinos otorgado por el Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud.	100
Anexo 15. Grupo de Investigación en Productos Naturales.....	101

RESUMEN

En la investigación se evaluó el efecto cicatrizante del gel del extracto hidroalcohólico y de las fracciones cloroformo, acetato de etilo y metanol de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill utilizando el modelo de herida por incisión y método tensiométrico con estudio histopatológico. Los animales de experimentación fueron cuarenta y dos ratones albinos, distribuidos aleatoriamente en seis grupos de siete miembros. Se evaluaron los grupos: gel del extracto hidroalcohólico a 1% (p/p), gel de cada uno de las fracciones a 0,5% (p/p), crema sulfadiazina de plata a 1% (p/p) y base de gel. El tamizaje fitoquímico se realizó con extracto hidroalcohólico al 80%, disuelto en metanol, agua y agua acidificada. Mediante las reacciones de coloración y/o precipitación se determinó presencia de metabolitos secundarios tales como: flavonoides, quinonas, alcaloides, taninos, taninos no hidrolizables, triterpenos, lactonas α - β insaturadas, dobles enlaces carbono - carbono y compuestos oxidables. Asimismo, el análisis cromatográfico determinó la presencia de triterpenos, flavonoides, taninos, quinonas y alcaloides. El ensayo pre- clínico, modelo de insición, demostró efecto cicatrizante del gel de extracto hidroalcohólico y fracciones, obteniéndose mayor porcentaje de fuerza de tensión del gel al 0,5% (p/p) de las fracciones, que gel al 1% (p/p) del extracto hidroalcohólico, incluso la fracción acetato de etilo fue estadísticamente comparable al efecto producido por crema sulfadiazina de plata. El estudio histopatológico corroboró los resultados del ensayo farmacológico. Finalmente, se concluye que la acción individual o sinérgica de los fitoconstituyentes como: triterpenos, compuestos fenólicos y alcaloides podrían ser los responsables del efecto cicatrizante de heridas.

Palabras clave: *Ficus citrifolia*, extracto hidroalcohólico, efecto cicatrizante.

ABSTRACT

In the research, the healing effect of the hydroalcoholic extract gel and of the chloroform, ethyl acetate and methanol fractions of the bark of the *Ficus citrifolia* Mill was evaluated using the incision wound model and tensiometric method with histopathological study. The experimental animals were forty-two albino mice, randomly distributed into six groups of seven members. The groups were evaluated: hydroalcoholic extract gel at 1% (w / w), gel from each of the fractions at 0.5% (w / w), silver sulfadiazine cream at 1% (w / w) and base of gel. The phytochemical screening was performed with 80% hydroalcoholic extract, dissolved in methanol, water and acidified water. The presence of secondary metabolites such as: flavonoids, quinones, alkaloids, tannins, non-hydrolysable tannins, triterpenes, α - β unsaturated lactones, carbon-carbon double bonds and oxidizable compounds was determined by the coloration and / or precipitation reactions. Also, the chromatographic analysis determined the presence of triterpenes, flavonoids, tannins, quinones and alkaloids. The pre-clinical trial, model of insicion, showed healing effect of hydroalcoholic extract gel and fractions, obtaining a higher percentage of tensile strength of the gel at 0.5% (w / w) of the fractions, than gel at 1% (w / w) of the hydroalcoholic extract, even the ethyl acetate fraction was statistically comparable to the effect produced by silver sulfadiazine cream. The histopathological study corroborated the results of the pharmacological trial. Finally, it is concluded that the individual or synergistic action of the phytoconstituents such as: triterpenes, phenolic compounds and alkaloids could be responsible for the wound healing effect.

Keywords: *Ficus citrifolia*, hydroalcoholic extract, healing effect.

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad mundial de plantas es la mayor fuente de medicamentos, a base de hierbas que se utilizan desde la antigüedad en el sistema de atención de salud tradicional. Las plantas medicinales contienen principios fisiológicamente activos que a lo largo de los años se han explotado en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas dolencias.

Actualmente la medicina tradicional es considerada como una alternativa terapéutica importante de diversas afecciones en la población, inclusive apoyado por la OMS desde 1976(1). Una de las afecciones con mayor incidencia en la población son las heridas (2). Los altos costos de los tratamientos y el difícil acceso a una atención convencional de gran parte de la población, han propiciado el interés en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, encontrando en las plantas las posibles soluciones.

Se sabe que alrededor del 80% de las personas a nivel mundial utilizan las plantas como fuentes seguras de medicamentos para curar enfermedades humanas (3). Sin embargo, gran parte de estas propiedades medicinales carecen de una validación por medio de estudios científicos.

La investigación tuvo como finalidad validar el uso etnofarmacológico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill, la cual es utilizada como cicatrizante de heridas. De esta manera, se busca brindar una alternativa natural a la población e incluso motivar a futuras investigaciones con el fin de lograr el desarrollo de un nuevo medicamento.

En esta investigación se realizó una evaluación in vivo del efecto cicatrizante del gel con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill, utilizando el modelo de herida por incisión y test tensiométrico con estudio histopatológico. Se evaluaron los grupos del gel del extracto hidroalcohólico a 1%, gel de las fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0,5%, y como grupo control positivo la crema sulfadiazina de plata 1% con el fin de comparar el efecto cicatrizante.

CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad problemática

Las heridas son un problema que afecta a gran parte de la población, sin distinguir edad y/o condición social. El daño tisular puede ocurrir por autoagresión o por factores mecánicos externos. Como ejemplo de este último podemos citar el informe Washington, D.C. (2015) (OPS/OMS), afirma que ocurren de 20 a 50 millones de heridas y 1,24 millones de muertes por año en el mundo, lo que hace de los accidentes vehiculares una de las principales causas de lesiones y muertes a nivel mundial (4).

Velnar T, Bailey T y Smarkolj V.(2009), afirman que el inmenso impacto social y económico de las heridas en todo el mundo es consecuencia de su alta tasa de ocurrencia en general y de su creciente frecuencia en la población en edad de envejecimiento. Además de un gran número de heridas agudas, también hay un gran número de heridas crónicas y difíciles de curar asociadas con enfermedades y anomalías que, directa o indirectamente, culminan en daños de la cobertura cutánea, como arterias, venas, diabéticos y úlceras por presión. La prevalencia de estas heridas crónicas aumenta con la edad. Por ejemplo, se ha estimado que las heridas crónicas afectan a 120 por 100 000 personas de entre 45 y 65 años y se elevan a 800 por 100 000 personas mayor a 75 años de edad (5).

Otro tipo de heridas de gran importancia son las producidas en intervenciones quirúrgicas. Según Webster J et al.2011, estiman que entre 187 y 281 millones de operaciones se realizan anualmente en todo el mundo, lo que equivale a una operación cada año por cada 25 personas (OMS 2009). Esta cifra es mayor en los países desarrollados. Por ejemplo, en Australia en 2008/09 se puede calcular a partir de las estadísticas del hospital que hubo una cirugía electiva por cada 12.4 personas (Instituto Australiano de Salud y Bienestar 2010). Las heridas quirúrgicas generalmente sanan por intención primaria; es decir, la herida se cura cuando los

bordes de la herida se juntan para que estén adyacentes entre sí, incluido el injerto de piel o el cierre primario (6).

En otro estudio realizado por Reyes AJ, Ramírez P y Stagnaro MA (2011), describen en cuanto a los sectores económicos afectados por heridas incisas la mayor prevalencia corresponde al sector Servicios 46%, seguido de la Construcción 34,3%, la Industria 17% y en menor medida Agricultura 2,7%. Según el análisis individualizado de los oficios, se determinó que la ocupación en la que se producen heridas incisas con mayor frecuencia es en la de peón de la construcción 25,8%, seguido por albañil 21,1%, conductor en general 6,3 % y carpintero 5,9%. Además, se reporta que en el 74,4 % de los casos, este tipo de heridas se localizó en zona anatómica del antebrazo hasta los dedos de la mano (7).

Ceballo E V, Falcones M. (2016), en estudio realizado en Ecuador, determinaron la prevalencia de enfermedades adquiridas por los trabajadores recolectores de basura durante el periodo de un año. Los resultados mostraron a heridas cortopunzantes con la mayor prevalencia de 44%, siguiendo las enfermedades virales por un 20%, gastroenteritis 15%, transmitidas por vectores por un 12%, problemas musculares un 9% (2).

Ademas de los factores antes mencionados, los accidentes de tránsito en nuestro país son en gran parte responsables de miles de heridas y muchas de ellas con consecuencias mortales. Según Pérez G y Bueno S. (8) reportaron que en Perú, el año 2009, 48 395 personas resultaron heridas a consecuencia de los accidentes de tránsito. Así mismo, en Chile, durante el año 2011, 54 000 personas resultaron heridas, un 12,4 % de ellas de gravedad.

De lo expuesto, podemos deducir que las heridas son un problema de salud que afecta a todos los sectores de la sociedad, su productividad y generan un gran impacto en la economía familiar; por lo tanto, con el trabajo de investigación se pretende buscar una nueva alternativa terapéutica a la convencional para el tratamiento de heridas tomando como referencia las propiedades benéficas que posee la especie vegetal *Ficus citrifolia* Mill “estrangulador”, en la reparación de tejido cicatrizal.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿El gel a base del extracto hidroalcohólico a 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill poseerá efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos?

1.2.2. Problemas específicos

1. ¿Las clases de metabolitos secundarios presentes en el gel a base del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill serán los responsables efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos?
2. ¿Existirán diferencias de efectos cicatrizantes del gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% respecto a las fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill en ratones albinos?
3. ¿El gel a base del extracto hidroalcohólico a 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill poseerá buen efecto cicatrizante respecto a la crema sulfadiazina de plata 1% en ratones albinos?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- Evaluar si el gel a base del extracto hidroalcohólico a 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill posee efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos

1.3.2. Objetivos específicos

1. Identificar las clases de metabolitos secundarios presentes en el gel a base del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill responsables del efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos.
2. Evaluar si existen diferencias de efectos cicatrizantes del gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% respecto a las fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill en ratones albinos.

3. Determinar si el gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill posee buen efecto cicatrizante respecto a la crema sulfadiazina de plata 1% en ratones albinos.

1.4. Justificación e importancia del estudio

Son varios los estudios que reportan el efecto cicatrizante de diversas especies del género *Ficus*, incluyendo los estudios etnofarmacológicos y experimentales.

Según Aldana CD et al, la especie vegetal *Ficus citrifolia* Mill contiene metabolitos secundarios con posible actividad cicatrizante y otras propiedades relacionadas a la reparación de tejido lesionado (9). Asimismo, hay reportes del uso tradicional como cicatrizante de algunas comunidades nativas en Ecuador y Estados Unidos (9),(10); Sin embargo, no hay estudios que validen el efecto terapéutico de la especie vegetal.

Por otro lado, se sabe que alrededor del 80% de las personas a nivel mundial utilizan las plantas como fuentes seguras de medicamentos para curar enfermedades humanas a través de diferentes sistemas de medicina complementaria (3).

Lock O. (2016), afirma que en el Perú se han realizado diversas investigaciones desde el punto de vista químico y farmacológico y varios miles de especies son conocidas y usados en bien de la salud; sin embargo, estos estudios representa menos del 5% de la gran flora del país (11).

No caben dudas, que el Perú es uno de los países con mayor diversidad de flora vegetal en el mundo. Sin embargo, la mayor parte de estas especies carecen de estudios científicos que validen el uso tradicional. Por lo tanto, la presente investigación se justifica en validar científicamente el efecto cicatrizante y encontrar las clases de metabolitos secundarios responsables del efecto terapéutico presentes en la especie vegetal *Ficus Citrifolia* Mill. Además, el estudio ayudará a dar un mejor uso de la especie vegetal y fomentar el desarrollo de otras investigaciones en productos naturales.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Nacionales

Márquez G y Fuentes C.(2011), en estudio titulado: “Capacidad antioxidante y caracterización estructural de las antocianinas de los frutos rojos de *Prunus domestica*, L *Ficus carica* L y *Vitis vinifera* L. c.v. (red globe) cultivados en Perú”. El proceso de aislamiento de las antocianinas se realizó recortando las bandas coloreadas y eluyendolas en 0,01% HCL en metanol, para posteriormente ser leídas en el espectrofotómetro. Estos resultados se los contrastó con HPLC. El análisis por HPLC advierte que en la muestra de higo se encuentran la cianidina 3-glucósido y cianidina 3-ramnoglucósido; en la muestra de ciruela la cianidina 3-xilósido, cianidina 3-glucósido, cianidina 3-rutinósido, peonidina 3-glucósido y peonidina 3-rutinósido; mientras que en la uva se encontró la delfinidina 3-glucósido, cianidina 3-glucósido, petunidina 3 -glucósido, peonidina 3-glucósido y malvidina 3-glucósido. La cuantificación de las antocianinas monoméricas totales de los tres frutos mostró que hay mayor cantidad de antocianinas monoméricas (expresado en mg de cianidina 3-glucósido /100 g) en la ciruela 39,92, seguido del higo 30,09 y la uva red globe 21,28. Asimismo, se determinó la actividad biológica de las antocianinas mediante la capacidad antioxidante de los frutos, encontrándose que la uva presenta una IC50 ($\mu\text{g/mL}$) de 3,87, el higo una IC50 ($\mu\text{g/mL}$) de 8,50 y la ciruela una IC50 ($\mu\text{g/mL}$) de 13,25 (12).

Arévalo JM, Ubillus SK y Delgado H V. (2013), determinaron la actividad anticoagulante in-vitro y cuantificaron la actividad farmacológica en la vía de la coagulación sobre la que actúa el latex de *Ficus insípida*, haciendo uso de pruebas de coagulación Tiempo de Protrombina (TP) y el Tiempo Parcial de Tromboplastina activada (TTPa). Se comprobó que el látex de *Ficus insípida* W. prolonga el TP a una concentración mayor o igual a 3,125% (v/v), y ambas pruebas (TP y TTPa) a una concentración mayor o igual a 6,125% (v/v). Los resultados obtenidos permitieron

afirmar que el látex de *Ficus insípida* W. presenta mayor actividad anticoagulante en condiciones in-vitro y de manera dosis dependiente sobre la vía extrínseca de la coagulación sanguínea desde una concentración igual o mayor a 1,5625% (v/v) y que a una concentración igual o mayor a 6,125% (v/v) posee un potente efecto anticoagulante sobre ambas vías de la coagulación (13).

Prado I. (2015), evaluó el efecto cicatrizante de los flavonoides aislados del extracto hidroalcohólico de las flores de *Agave americana* "cabuya". Mediante análisis cromatográfico y espectral se identificaron flavonoles y rutina. Luego, el efecto cicatrizante se determinó mediante el método tensiométrico administrándose flavonoides aislados de las flores de *Agave americana* a concentraciones de 0,2; 0,5 y 1% y comparados frente al estándar Dermaclín Plus. El mayor porcentaje de efecto cicatrizante se observó con la concentración de 0,5%, alcanzando un 67,1 %, inclusive fue significativamente mayor que el estándar Dermaclín Plus ($p < 0,05$), y al 1% con un 63,2%, estadísticamente similar ($p > 0,05$) (14).

Bravo AV y Acuña WD. (2015), en su estudio que tuvo como objetivo determinar los metabolitos secundarios, así como los tipos de flavonoides, presentes en hojas de *Ficus benjamina* L. Para ello, se realizaron ensayos fitoquímicos que dieron "positivo" para cumarinas, fenoles, azúcares reductores, quinonas, antraquinonas, proteínas, saponinas, grupos funcionales (como cetónicos y aldehídos), flavonoides y anillos aromáticos. En la extracción e identificación de los tipos de flavonoides, se utilizó un extracto de las hojas obtenido a partir de una mezcla de agua: acetonitrilo: metanol; aplicando la técnica de cromatografía en capa fina, se utilizó como fase estacionaria una placa de aluminio impregnada de sílicagel 60 F254; y como fase móvil, un solvente BAW (n-butanol: ácido acético: agua) en proporción 4:1:5. La placa resultante se reveló en luz UV, mostrando mejor visibilidad de colores utilizando onda larga (358 nm) y se identificó la presencia de flavanonas y flavonas sin 5-OH libre y flavonoles con un 3-OH libre y con/sin 5-OH libre (15).

Abarca E y Chávez J. (2018), en su estudio que tuvo como objetivo determinar la actividad antiulcerosa del extracto etanólico de las hojas de *Ficus carica* L. (higo) en ratas. En el análisis fitoquímico preliminar se evidenció la presencia de flavonoides,

alcaloides, compuestos fenólicos y grupos aminos libre. Para la actividad antiulcerosa el tratamiento con mayor eficacia fue el extracto etanólico de las hojas de *Ficus carica* L. (higo) a dosis de 800 mg/kg, obteniendo un 83,01 % de inhibición de ulceración gástrica y comparando con el grupo patrón de ranitidina que obtuvo un 73,58 % de inhibición. Estos resultados fueron obtenidos en el análisis macroscópico (escala de Marhuenda). Finalmente, los hallazgos permitieron concluir que el extracto etanólico de las hojas de *Ficus carica* L. (higo) a dosis de 800 mg/kg tiene actividad antiulcerosa en ratas (16).

2.1.1. Internacionales

a. *Ficus citrifolia* Mill

Aldana CD, Guayasamín LE y Noriega P.(2014), en su investigación, se evaluó la actividad antioxidante de los extractos fluidos, acuoso y alcohólicos al 20%, 50% y 80% de *Ficus citrifolia* Mill mediante los ensayos de DPPH (2,2-difenil-1- picrilhidracilo) y ABTS (2,2' Azinobis-3-etil- benzotiazolina-6-ácido sulfónico) y también se cuantificaron los fenoles mediante el método de Folin-Ciocalteu, y flavonoides totales expresado en mg de hiperósido/mL. En todos los ensayos se demostró valores significativos del extracto 80% alcohólico de *Ficus citrifolia* Mill y muy cercanos a los obtenidos para el extracto 50% alcohólico de té verde (*Camellia sinensis*). Asimismo, los investigadores reportan el uso popular de *Ficus citrifolia* Mill como antiinflamatorio y cicatrizante como es el caso de la comunidad shuar, comunidad nativa del Ecuador (9).

Por otro lado, Andreu MG et al.(2016), en su investigación varios estudios han demostrado que los extractos de muchas especies de *Ficus* son antibacterianos, antiinflamatorios y analgésicos. Además, reportan el uso popular de la corteza de higuera (*Ficus citrifolia* Mill) para tratar heridas por los indígenas de Panamá. Asimismo, los Seminole, tribu norteamericana, usaron la corteza de la higuera de hojas cortas (*Ficus citrifolia* Mill) de manera similar (10).

Valdez LK Y Palacios EW.(2017), en su investigación realizado en Ecuador, reportan el uso popular de los frutos de higuera (*Ficus citrifolia* Mill), aplicado en forma de

cataplasmas en abscesos dentales, favoreciendo la maduración y cicatrización de las heridas (17).

b. Otras especies

1. *Ficus hispida*

Murti K, Singh R, Paliwal D y Taya P.(2011), en su artículo titulado: “Effect of *Ficus hispida* L. on normal and dexamethasone suppressed wound healing”. El extracto etanólico de las raíces de *Ficus hispida* se investigó en condiciones de curación normales y con dexametasona deprimidas, utilizando modelos de incisión, escisión y herida en el espacio muerto en ratas albinas. El extracto de raíz de *Ficus hispida* ha mostrado la máxima resistencia a la rotura en comparación con el grupo de control. La tasa de epitelización y contracción de la herida en el modelo de escisión fue mejor en comparación con los grupos de control. Hubo un aumento significativo en el peso del tejido de granulación y el contenido de hidroxiprolina en el modelo de espacio muerto en comparación con el grupo control. El efecto anti curativo de la dexametasona también se revirtió mediante la administración de extracto etanólico de *Ficus hispida* en todos los modelos de herida. El análisis fitoquímico preliminar del extracto de raíz de *Ficus hispida* mostró la presencia de taninos, alcaloides y saponinas, que pueden ser responsables de la actividad cicatrizante de la herida (18).

2. *Ficus benghalensis*

Garg VK, Paliwal SK (2011), en su artículo denominado: “Actividad cicatrizante de extractos etanólicos y acuosos de *Ficus benghalensis*”, evaluaron el efecto cicatrizante de heridas de los extractos etanólicos y acuosos de *F. benghalensis* en modelos de escisión e incisión de heridas. Los parámetros estudiados incluyen la velocidad de contracción de la herida y el período de epitelización completa (modelo de escisión), y la resistencia a la tracción de la herida (modelo de incisión). Se utilizó la prueba t de Student para analizar los resultados obtenidos, se consideró significativo un valor de $p < 0,05$. Se encontró que tanto los extractos etanólicos como los extractos acuosos de *F. benghalensis* poseen una importante actividad de curación de la herida, lo que se

evidenció por la disminución en el período de epitelización, el aumento de la velocidad de contracción de la herida y la resistencia a la rotura de la piel. Además, describen que la propiedad de curación de la herida de *F. benghalensis* puede atribuirse a los metabolitos secundarios como glucósidos y flavonoides presentes en los extractos etanólicos y acuosos de la especie vegetal, y el proceso más rápido de curación de heridas podría ser una función de los efectos individuales o aditivos de los fitoconstituyentes (19).

3. *Ficus benjamina*

Bauer G y Speck T (2012), en su investigación titulado: “Restauración de la resistencia a la tracción en muestras de corteza de *Ficus benjamina* debido a la coagulación del látex durante la autocuración rápida de fisuras”, cuantificaron la contribución de la coagulación del látex de *Ficus benjamina* (higo llorón) a la restauración de las propiedades mecánicas de la corteza después de lesiones externas. Las pruebas de tracción de la corteza de *F. benjamina* se realizaron inmediatamente después de la lesión o en varios períodos de latencia después de la lesión. Los autores llegaron a la conclusión que la coagulación de látex sella las lesiones y sirve como un paso previo rápido y efectivo de mecanismos de autocuración subsiguientes, más efectivos y duraderos, como el crecimiento celular y la proliferación. En consecuencia, los investigadores sugieren que un efecto rápido de cicatrización puede ser incluido en la lista de funciones de látex de la planta (20).

4. *Ficus racemosa*

Murti et al. (2012), en su artículo titulado: “Mejora de la cicatrización de la herida con raíces de *Ficus racemosa* L. en ratas albinas”, establecieron la actividad de curación de heridas del extracto acuoso y etanólico de raíces de *Ficus racemosa* (*F. racemosa*). Se realizaron dos modelos para evaluar el efecto cicatrizante: modelos de incisión y escisión. En el modelo de incisión, el parámetro que se llevó a cabo fue la fuerza de ruptura de la piel herida. En el modelo de escisión, se estableció el porcentaje de contracción de la herida y el período de epitelización para ambos extractos. El control positivo fue la pomada de povidona yodada para su comparación con otros grupos. El

ensayo experimental reveló que tanto los grupos tratados con extractos acuosos como los extractos etanólicos de *Ficus racemosa* poseen buenas propiedades de cicatrización de heridas que pueden atribuirse a la acción individual o combinada de fitoconstituyentes tales como flavonoides, alcaloides, saponinas y taninos presentes en el mismo. Finalmente, los investigadores concluyen que el extracto acuoso de *F. racemosa* posee un mejor efecto cicatrizante de heridas que el extracto etanólico (21).

5. *Ficus asperifolia*

Nwankwo IU y Ukaegbu KM (2014), determinaron mediante análisis fitoquímico de los extractos etanólicos y de agua caliente de *F. asperifolia*, la presencia de los siguientes fitocomponentes: taninos, flavonoides, saponinas, glucósidos y alcaloides. Asimismo, el resultado del ensayo antimicrobiano, muestra que el extracto etanólico mostró una mayor actividad antibacteriana que el extracto de agua caliente. Se encontró que la zona de inhibición obtenida especialmente contra *S. pneumoniae* del extracto de etanol de la raíz de *F. asperifolia* ($30,17 \pm 0,07$ mm) era comparable a la del antibiótico estándar primario - Gentamicina ($29,17 \pm 0,08$ mm) utilizado en este estudio. Las actividades de los dos extractos contra *E. coli* varían desde una inhibición débil hasta una fuerte. Los resultados de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (MBC) de los extractos revela que mientras algunos extractos mostraron efectos bactericidas, otros fueron bacteriostáticos. Finalmente se concluye que esta planta estudiada es potencialmente una buena fuente de agentes antimicrobianos y demuestra la importancia de esta planta en la medicina y en la asistencia a la atención primaria de salud (22).

6. *Ficus exasperata*

Umeh et al (2014), en su artículo: "Actividad de curación de heridas del extracto acuoso de la hoja y fracciones de *Ficus exasperata* (Moraceae) y su evaluación de seguridad en ratas albinas", realizó el estudio fitoquímico del extracto y de las fracciones (n-hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol) encontrando la presencia de alcaloides, saponinas, esteroides, terpenoides, glicósidos, taninos y flavonoides. Se ha informado que las saponinas y flavonoides tienen actividad cicatrizante de heridas. Los

terpenoides promueven el proceso de cicatrización de las heridas principalmente debido a sus actividades astringentes y antimicrobianas que parecen ser responsables de la contracción de la herida y el aumento de la tasa de epitelización. Los flavonoides y sus derivados disminuyen la peroxidación lipídica mejorando la vascularización, lo que conduce a una disminución de la necrosis celular. Los taninos también han demostrado tener actividad cicatrizante de heridas. Por lo tanto, el potencial de cicatrización de *F. exasperata* puede atribuirse a las contribuciones de los metabolitos secundarios individuales. Los efectos sinérgicos o complementarios de los fitoconstituyentes se demostraron adicionalmente por la mayor actividad registrada por el extracto en comparación con las fracciones. Finalmente, el estudio justificó el uso del extracto de hoja de *F. exasperata* en el tratamiento de heridas cutáneas más que cualquiera de sus fracciones. Sin embargo, *F. exasperata* puede no ser seguro en dosis altas, especialmente para el tratamiento de enfermedades crónicas como la hipertensión y la diabetes, como se pudo observar en la toxicidad subcrónica y los hallazgos histopatológicos (23).

7. *Ficus sycomorus*

Al-matani SK, Al-wahaibi RNS y Hossain MA (2015), en artículo titulado: "Contenido total de flavonoides y actividad antimicrobiana del extracto crudo de hojas de *Ficus sycomorus* originario del Sultanato de Omán", obtuvieron extractos crudos de las hojas de *Ficus sycomorus* (*F. sycomorus*) nativas de Omán, y determinaron su contenido total de flavonoides, así como su actividad antimicrobiana. Las muestras de hojas en polvo se extrajeron con metanol mediante el método de maceración. El extracto crudo resultante se suspendió en agua y se extrajo sucesivamente con hexano, cloroformo, acetato de etilo y butanol. Los flavonoides totales de los extractos anteriores se determinaron mediante el método del cloruro de aluminio, y la actividad antimicrobiana de los mismos extractos se evaluó mediante un método de difusión en disco ligeramente modificado contra diferentes Gram (+ y -) Cepas bacterianas. El contenido más alto de flavonoides se encontró en extracto de cloroformo seguido de hexano, butanol, acetato de etilo y extractos de agua, respectivamente. Probados contra cuatro cepas bacterianas, los extractos mostraron actividad en el rango de 0-12 mm,

utilizando amoxicilina como estándar. Según los autores, los resultados actuales podrían establecer esta planta como una fuente potencial de antibióticos (24).

8. *Ficus deltoidea*

Rosnah J, Khandaker MM y Boyce AN.(2015), en artículo titulado: “*Ficus deltoidea*, revisión sobre antecedentes y potencial farmacológico reciente”, los investigadores advierten que el extracto acuoso de *F. deltoidea* mejoró significativamente la actividad de cicatrización de heridas en ratas al mejorar el cierre de la herida y la proliferación de fibroblastos, lo que contribuyó a angiogénesis. Además, sugieren que las actividades cicatrizantes de la herida pueden ser causadas por la regulación del colágeno 1, también un aumento en la resistencia a la tracción de las heridas. En adición, los investigadores informaron que los flavonoides presentes en el extracto de *F. deltoidea* podría contribuir a este proceso de curación de heridas, ya que se informó que el flavonoide puede promover la cicatrización de heridas y proteger los tejidos del daño oxidativo (25).

9. *Ficus carica L*

Expósito E, Díaz A, Contreras J, Cabaloso T y Cabaloso D.(2017), en artículo: “Estudio cualitativo de sustancias químicas presentes en la planta *Ficus carica L*”, realizado en Cuba, identificaron con tamizaje fitoquímico, (técnica de Rondina y Coussio) (fracciones A-F), la presencia de metabolitos secundarios en diversos órganos aéreos de la planta, frutos verdes, maduros y hojas. Se utilizó como materia prima material vegetal fresco, al cual se le realizó secado a pocas horas de la recolección, en estufa con circulación de aire a temperatura inferior a los 50 °C. Los resultados mostraron que en la fracción A se encuentran aminos y taninos, la presencia de triterpenos-esteroides se observa en la fracción B, C2 y D en las hojas y frutos, existen flavonoides y proantocianidinas-catequinas en la fracción D y E en todas las partes estudiadas. Los azúcares reductores se obtienen solo en la fracción E y las saponinas en la F. Finalmente, los investigadores concluyen que en la composición química de los frutos y hojas de especie *Ficus carica L* se encuentran la presencia de metabolitos como aminos, taninos, triterpenos-esteroides, flavonoides, proantocianidinas-catequinas y azúcares reductores, composición similar a las especies de otros países (26).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Ficus citrifolia* Mill

a. Características generales

Árbol hemiepipítico, estrangulador o rupícola, de 4-20 m. **Corteza** pardo verde o grisácea, con exudado blanco, medianamente abundante, denso. **Yema foliar terminal** de 7-12 mm de largo × 1-4 mm en la base, pardo oscura o negra, glabra. **Entrenudos** glabros, con exudado acuoso, medianamente abundante, no pegajoso. **Lámina foliar** de 7,5-22 × 3-11,5 cm, 1,3-2,3 veces más larga que ancha, elíptica u ovada, coriácea, base ligeramente truncada a obtusa, ápice cuspidado, con un acumen de 4-11 mm de largo, frecuentemente un poco recurvado, haz y envés glabro, 8-14 pares de venas laterales, inclinadas 60-70° con respecto a la costa, medianamente conspicuas; **pecíolo** de 13-92 × 0,7-2 mm, sulcado por el haz, glabro. **Siconos** con pedúnculo de 4-17 × 1-2 mm, rollizo, pardo, liso, glabro; **brácteas basales** inconspicuas a ligeramente conspicuas, 1,5-3 × 1,7-3 mm, deltoides, ápice agudo o redondeado, pardas, glabras, persistentes; **ostiolo** 2-4 × 2-4 mm, circular, pardo oscuro o negro, aplanado a ligeramente convexo, en ocasiones con un anillo medianamente grueso; **sicono** de 5-19 × 5-19 mm, obloide o esférico y frecuentemente con el ápice aplanado, verde en fresco (fases A-E), pardo amarillo a pardo oscuro al secar, liso o verrucoso, glabro, pared del higo de 0,1-0,2 mm de grosor (Ver Figura 1) (27).

b. Diversidad y hábitat

Ficus citrifolia Mill, está ampliamente distribuida desde los Estados Unidos (Florida) México, a través de América Central hasta las Guayanas, y Sudamérica desde Colombia hasta el norte de Argentina, especialmente en las tierras bajas húmedas y los bosques montanos en seco a altitudes de hasta 2200 a 2400 msnm (28).

Según De Mendoza LR y Romaniuc S., a la especie *Ficus citrifolia* Mill se encuentra sobre afloramiento rocoso o suelo arenoso, en el cerrado, habita preferentemente

borde de ríos (29). En el Perú esta especie abunda en los bosques de la Amazonía, principalmente en las regiones de Ucayali y Loreto (30).

c. Clasificación Taxonómica

La clasificación taxonómica de la especie vegetal se realizó en el Museo de Historia Natural de la UNMSM, por el Botánico José Ricardo Campos de la Cruz, quien emitió el certificado de identificación botánica a nombre personal. En base al Sistema de Clasificación Botánica de Arthur Cronquist, ha sido determinada para *Ficus citrifolia* Mill la siguiente clasificación (Ver Anexo 3):

- **Reino:** Plantae
 - **División:** Magnoliophyta
 - **Clase:** Magnoliopsida
 - **Subclase:** Hemamelididae
 - **Orden:** Urticales
 - **Familia:** Moraceae
 - **Género:** *Ficus*
 - **Especie:** *Ficus citrifolia* Mill
- **Nombre vulgar:** estrangulador

d. Nombres vulgares

El nombre varía de acuerdo a su localización región o país, por ejemplo en Ecuador se le denomina higuerón, higuereta, matapalo (9),(22). En Brasil es conocido con los nombres de figueira y gameleira negra (29), mientras que en Puerto Rico, se le conoce a esta especie como jagüey blanco (32). Así mismo, en la Florida (Estados Unidos) se le denomina higuera de hojas cortas. En México tiene varios nombres como podemos citar amate prieto, camichin, chalata, matapalo, tescalamilla (27).

En el Perú no existe un nombre común específico para esta especie, sin embargo el género *Ficus* (Moraceae) está asociado a nombres vulgares como ojé, renaco, matapalo y renaquillo (30).

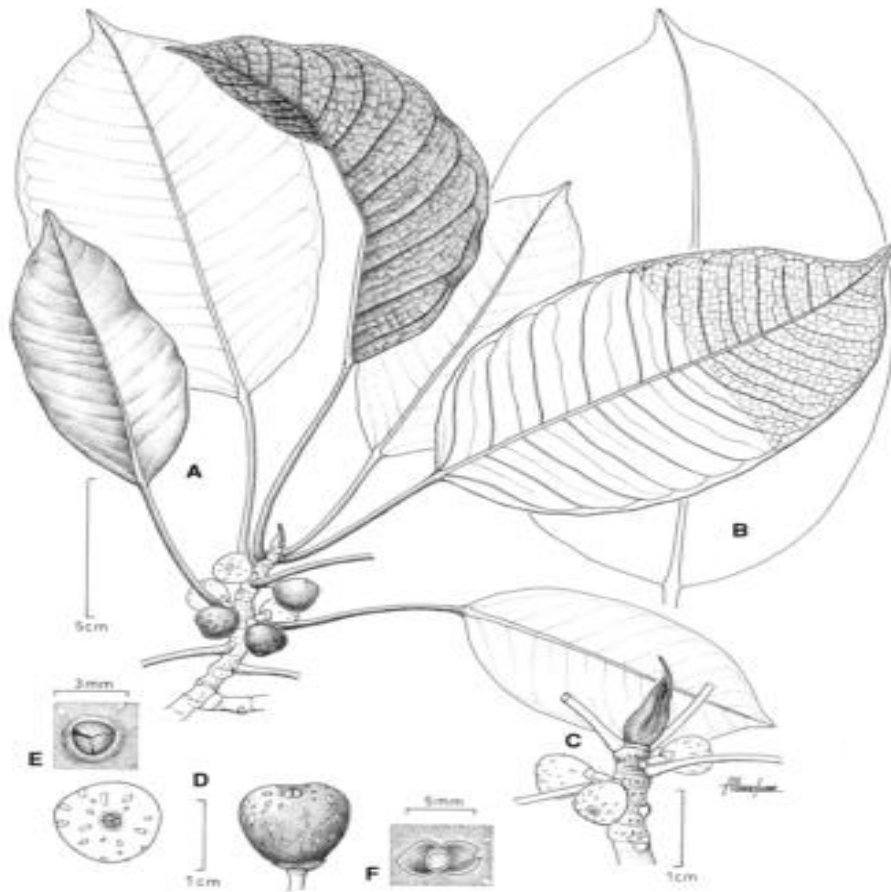


Figura 1. *Ficus citrifolia* Mill: (A) rama con siconos; (B) lámina foliar de tamaño mayor; (C) yema foliar terminal con sicono; (D) vista dorsal y superior del sicono; (E) ostíolo del sicono; (F) brácteas basales del sicono (27).

e. Uso y forma de uso

García KT y Noriega PF (2015), en su estudio afirman que entre las aplicaciones medicinales de *Ficus citrifolia* Mill, se encuentra el uso del latex para curar heridas e infecciones. Asimismo, reportan que en algunos pueblos indígenas de Panamá utilizan la corteza de esta especie vegetal como cicatrizante.

En las Bahamas se usa para tratar el cáncer, problemas gastrointestinales y circulatorios, así como afecciones cutáneas y algunos tipos de dolor. Los habitantes en Santa Lucía, Estado insular en América, usan dos piezas de la raíz con puntas abiertas que unidas se las ponen alrededor de la cintura como un cinturón para tratar dolencias conocidas como mal de la cintura (28).

Aldana CD y Guayasamín LE (2014), en su investigación reporta que, en la provincia de Morona Santiago, la etnia shuar (Ecuador), utilizan la especie vegetal por vía oral como antiinflamatorio y cicatrizante (9).

f. Metabolitos secundarios con efectos relacionados a cicatrización extraídos del género *Ficus*.

En el 2010, cuatro compuestos fueron aislados de la fracción de EtOAc (1-4) y tres compuestos de n-BuOH (5-7), obtenidos por fraccionamiento del extracto de metanol al 70% desgrasado de hojas de *Ficus sycomorus* (Ver Figura 2). Las estructuras de los compuestos aislados se dilucidaron utilizando ciertos métodos espectroscópicos como quercetina (1) ácido gálico (2) quercetina 3-O-L-ramnopiranosil (1 → 6) -β-D-glucopiranosido (Rutina) (3), quercetina 3-O-β-D-glucopiranosido (Isoquercitrina) (4), quercetina 3,7-O-α-L-diramnósido (5), quercetina 3-O-β-D- galactopiranosilo (1 → 6) - glucopiranosido (6) y β-sitosterol-3-β-D- glucopiranoside (7). Los compuestos (1-6) se encontraron como componentes principales y principalmente responsable de la actividad antioxidante de *F. sycomorus* mediante el uso de dos métodos in vitro, el radical DPPH y la capacidad antioxidante total, respectivamente (33).

Según Akkol EK et al, (2015), afirman que los compuestos fenólicos podrían tener importante efecto cicatrizante de heridas previniendo la condición inflamatoria persistente, la peroxidación lipídica y por sus efectos de la rutina inhibiendo la enzima hialuronidasa (34).

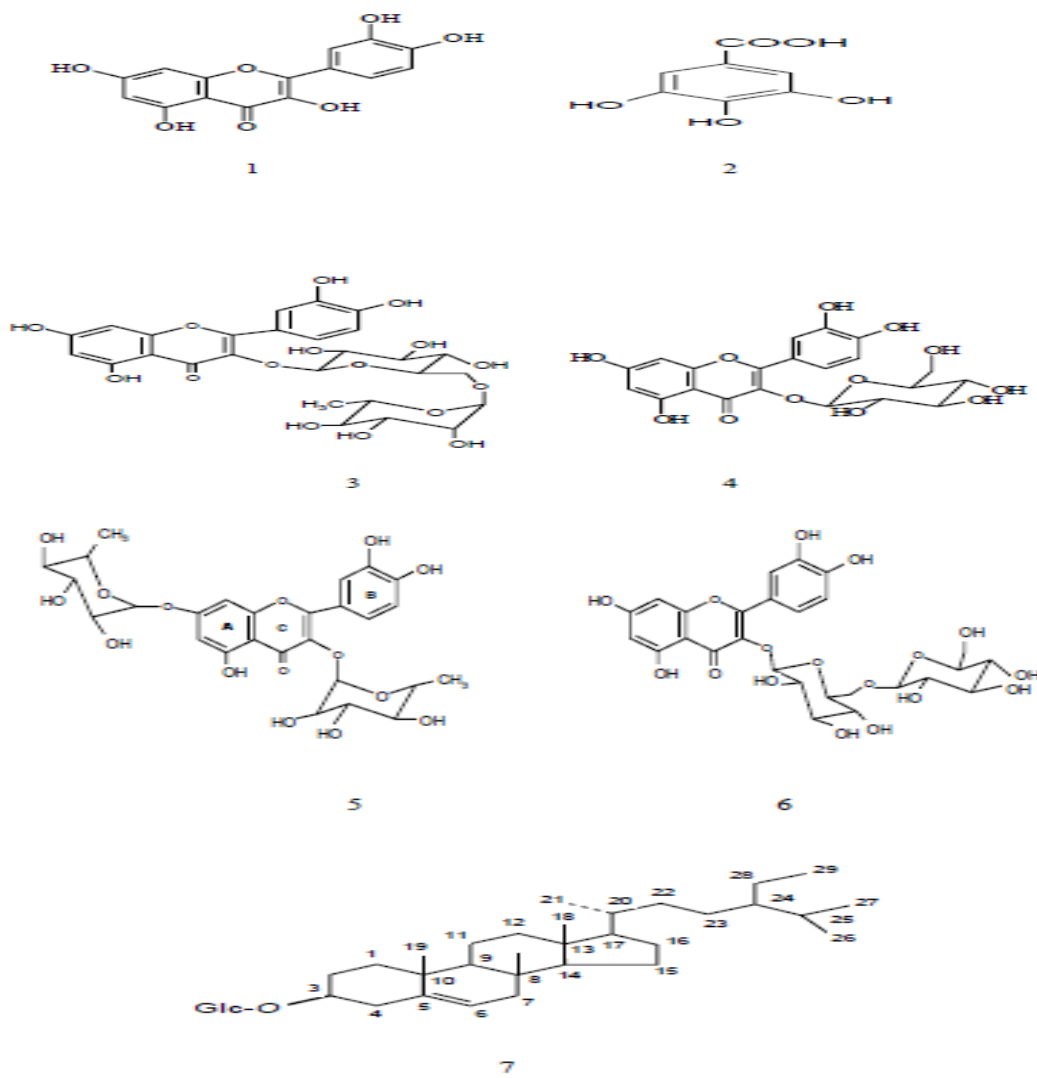


Figura 2. Estructura de los compuestos aislados de hojas de *F. sycomorus* (33).

En el 2011, dos nuevos compuestos polifenólicos llamados retusafenol [2-hidroxi-4-metoxi-1,3-fenileno-bis- (4-hidroxibenzoato)] y (+) - retusa afzelechin [afzelechin - (4 β → 8) - afzelechin - (4 β → 8) - afzelechin] junto con diez compuestos conocidos (Ver Figura 3): luteolina, (+) - afzelechin, (+) - catequina, vitexina, β -sitosterol acetato, β -acetato de amirina, moretenona, friedelenol, β -amirina y β -sitosterol se aislaron por primera vez del extracto etanólico de las partes aéreas de *Ficus retusa* L. "variegata". Sus estructuras químicas se establecieron sobre la base de evidencia espectral; UV, IR, MS, 1H y 13C-RMN, así como la comparación con los valores de la literatura. Se

realizaron ensayos anticancerígeno, antioxidante, antidiabético, hepatoprotector, antiinflamatorio y también las actividades antimicrobianas de los diferentes extractos de plantas, obteniéndose resultados significativos (35). La gran variedad de propiedades benéficas de los compuestos aislados, sugieren hacer nuevas investigaciones para determinar la seguridad del uso y su aplicación en otras actividades tales como cicatrizante y analgésico.

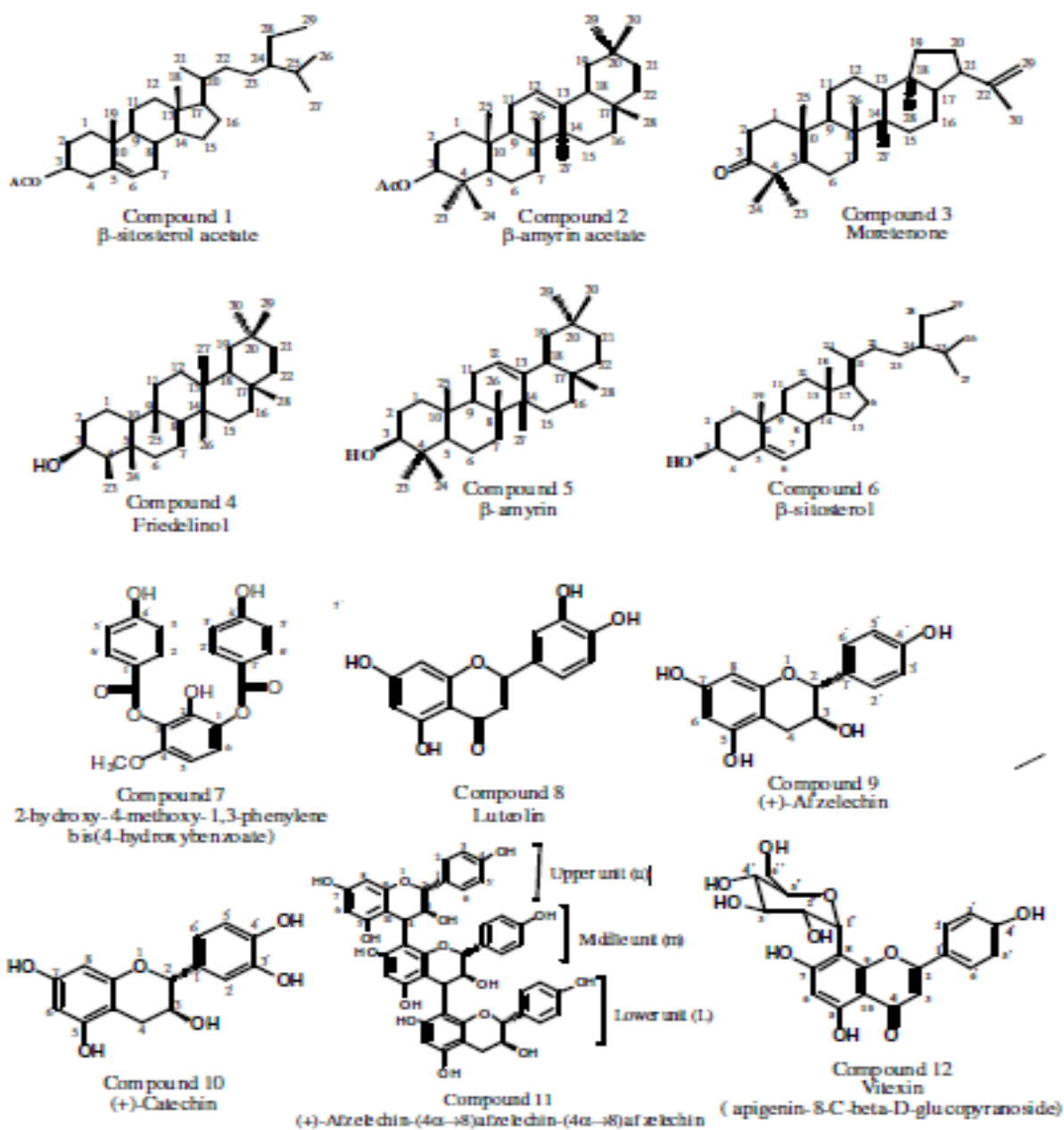


Figura 3. Compuestos aislados de *Ficus retusa* L. "variegata" (35).

En el 2014, la investigación comprobó la presencia de numerosos y diferentes alcaloides en *F. benjamina*. Las estructuras químicas de los alcaloides identificados se describen en las Figuras 4 (a) - (c). En el extracto de hojas, los alcaloides más abundantes son la columbamina (1) (31,07%) y laudanosolina (2) (17,7%); alcaloides con la abundancia relativa del 5% al 10% es metilcoridaldina (3) (9,63%), salsolina (4) (8,61%), reticulina (5) (6,42%), calicantidina (6) (5,85%) y alcaloides con una abundancia relativa del 5% que encontramos son akuammidina (7) (3,04%), anabasina (8) (2,23%), tomatidina (9) (1,28%), derivado de acridina (10) (1,84%), sophocarpina (11) (1,81%), neblina (12) (1,38%), harmina (13) (1,65%), obscurinervinediol (14) (1,19%), ergolina (15) (1,12%), elipticina (16) (1,04%), N-óxido indicativo (17) (1,76%), matridina (18) (0,94%), scoulerina (19) (0,65%), hidroxí morfina (20) (0,41%), aspidospermidina (21) (0,44%), nicodicodina (22) (0,41%), adenocarpina (23) (0,36%), licocernuina (24) (0,22%), isoclaurina (25) (0,03%), dasicarpidan (26) (0,15%), retronecina (27) (0,06%), clemastina (28) (0,09%). En el extracto de corteza, los alcaloides más abundantes son anabasina (8) (24,85%), p-bromo atropina (29) (28,09%), columbamina (1) (17,13%), laudanosolina (2) (14,79%); alcaloides con abundancia las clases del 5% al 10% no están presentes; mientras que bajo el 5% de la clase de abundancia relativa encontramos crinamidina (30) (4,22%), obscurinervinediol (14) (2,81%), matridina (18) (2,24%), solasodina (31) (1,36%), nicodicodina (22) (1,42%), ibogamina (32) (1,10%), lutidina (33) (0,73%), cinchophen (34) (0,57%), ajamalicina (35) (0,21%), dasicarpidol (36) (0,42%). Se observó una correlación significativa entre el contenido total de alcaloides de los extractos crudos y el ensayo de 2,2-difenil-1-picrililhidracilo (DPPH), lo que sugiere que el nivel de actividad antioxidante en esta especie está fuertemente correlacionado al contenido de alcaloides (36). Estos hallazgos deben dar información útil para otras posibles aplicaciones farmacéuticas tales como cicatrizante, analgésica y antiinflamatorio; ya que son actividades altamente relacionadas.

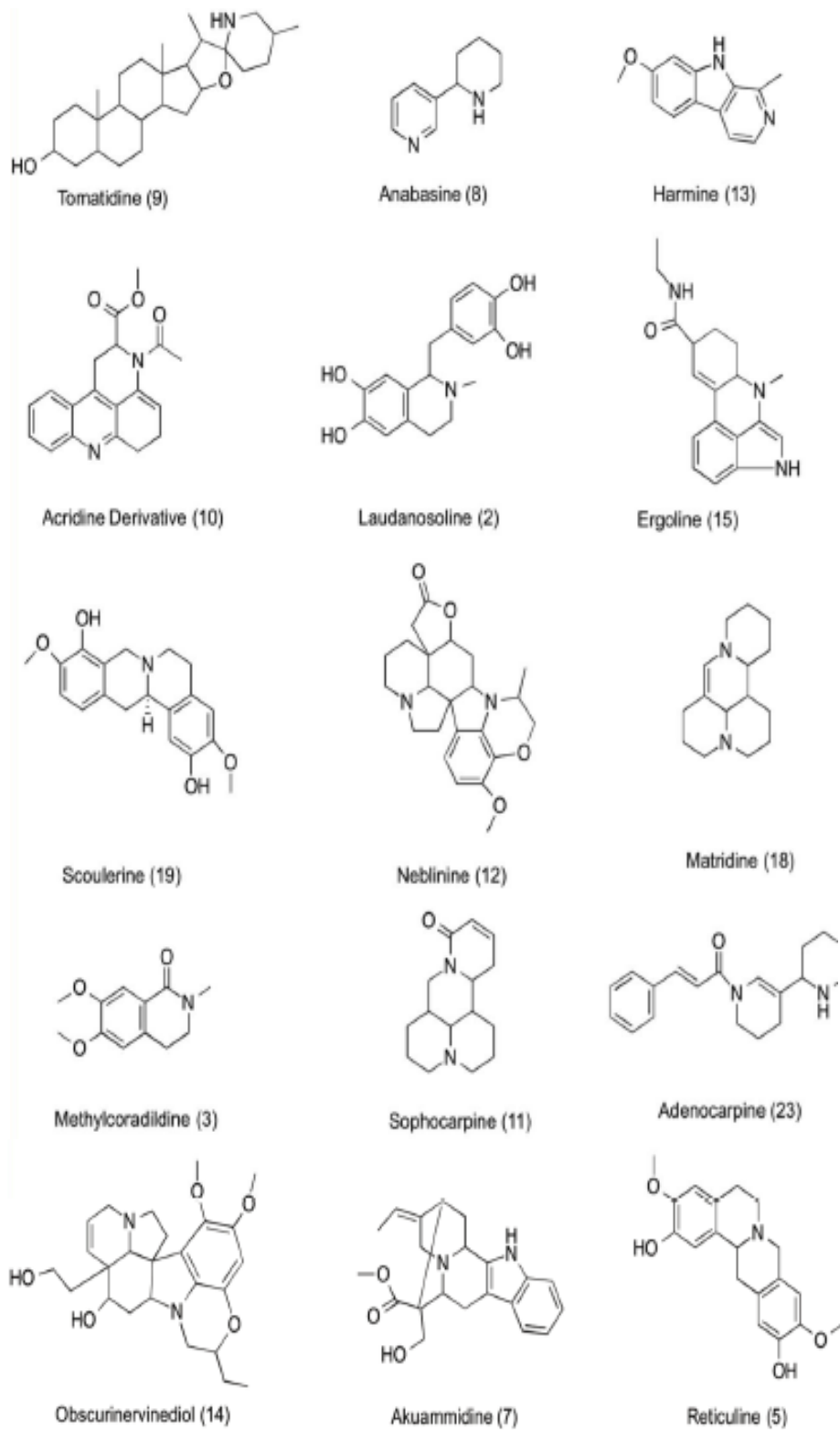


Figura 4: (a) Alcaloides identificados en extractos de hojas de *F. benjamina* (36).

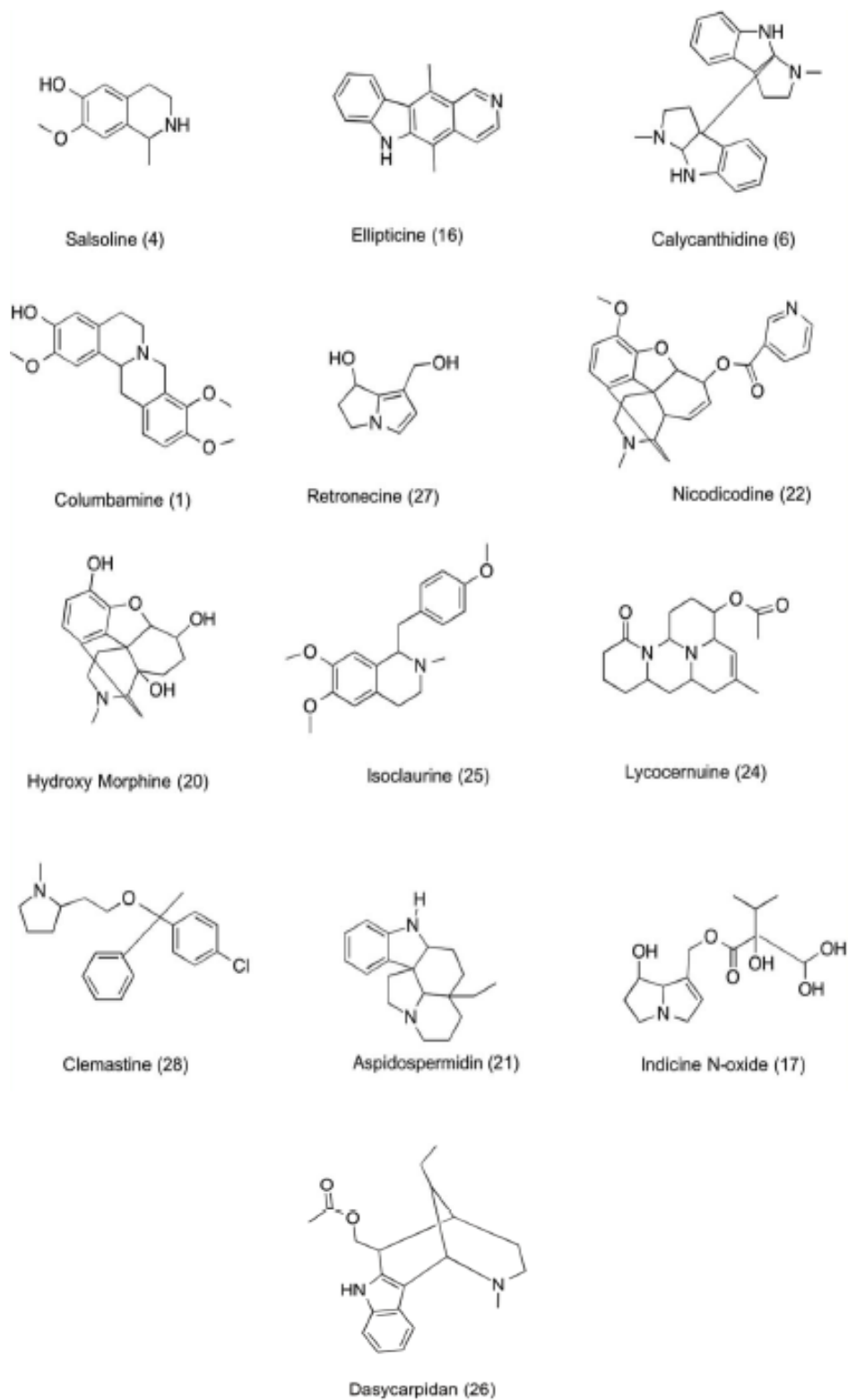


Figura 4: (b) Alcaloides identificados en extractos de hojas de *F. benjamina* (36).

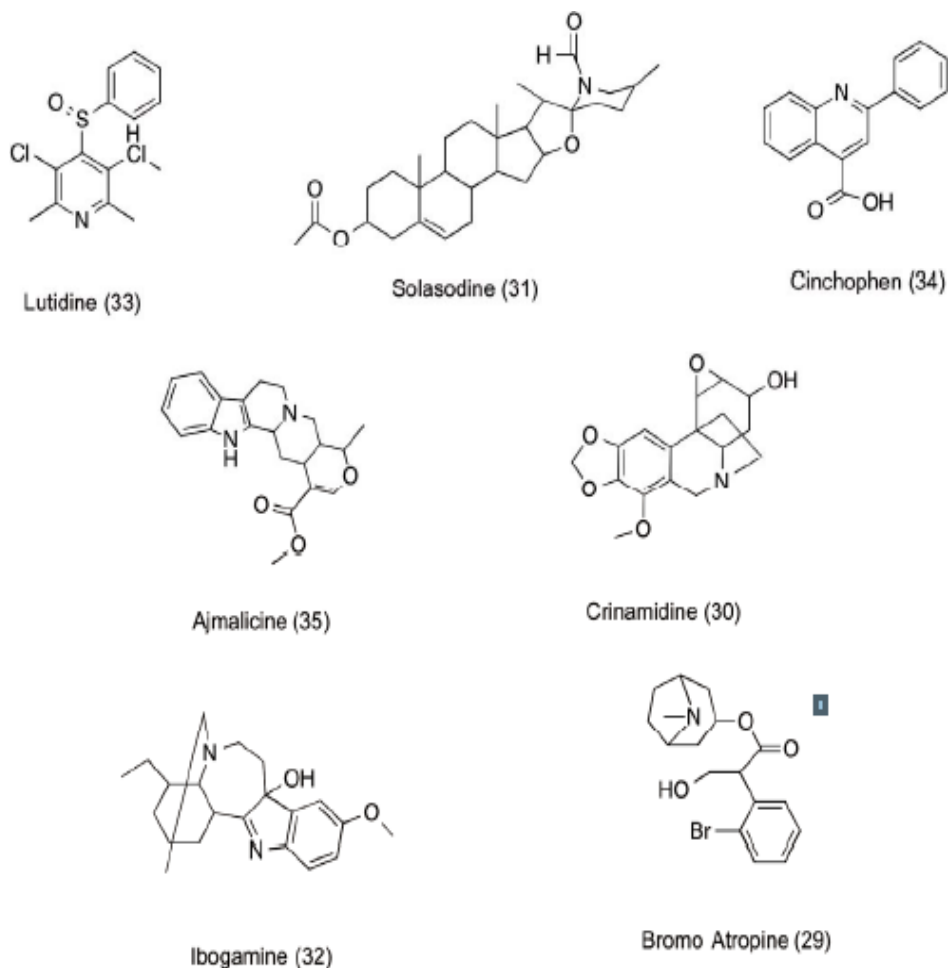


Figura 4: (c) Los alcaloides identificados en los extractos de corteza de *F. benjamina* (36).

En el 2015, se identificaron siete compuestos conocidos en los extractos de corteza del tallo de *F. drupacea* que no se han aislado antes de la corteza de esta especie (Ver Figura 5). Estos compuestos incluyen el compuesto 1 (β -amirina; 80 mg), 2 (β -sitosterol-3-O- β -D-glucopiranosido; 9,8 mg), 3 (5-O-metilatifolina; 50 mg), 4 (ácido oleanólico; 180 mg), 5 (epifriedelanol; 15 mg), 6 (friedelina; 14,35 mg) y 7 (acetato de epilupeol; 12,45 mg). Entre los compuestos aislados, los compuestos 3 y 7 mostraron las mayores actividades antifúngicas y antibacterianas. Otros compuestos exhibieron actividades mucho más bajas contra hongos y bacterias cribados. Además, *A. versicolor* y *A. ochraceus* fueron los más sensibles a los compuestos seleccionados, mientras que *C. albicans* fue el hongo más resistente. Los compuestos 4, 5 y 6 no mostraron mucha variación en sus actividades antibacterianas excepto contra *S. aureus* y *E. coli*. La actividad de los compuestos aislados fue mucho mayor que la del

extracto crudo contra hongos y bacterias. Asimismo, los compuestos 4, 6 y 7 mostraron las mayores actividades antiproliferativas contra células cancerosas. Sin embargo, se requieren estudios adicionales, no solo para investigar los mecanismos subyacentes a las actividades biológicas observadas de los compuestos aislados, sino también para dilucidar las aplicaciones comerciales de los posibles futuros fármacos (37).

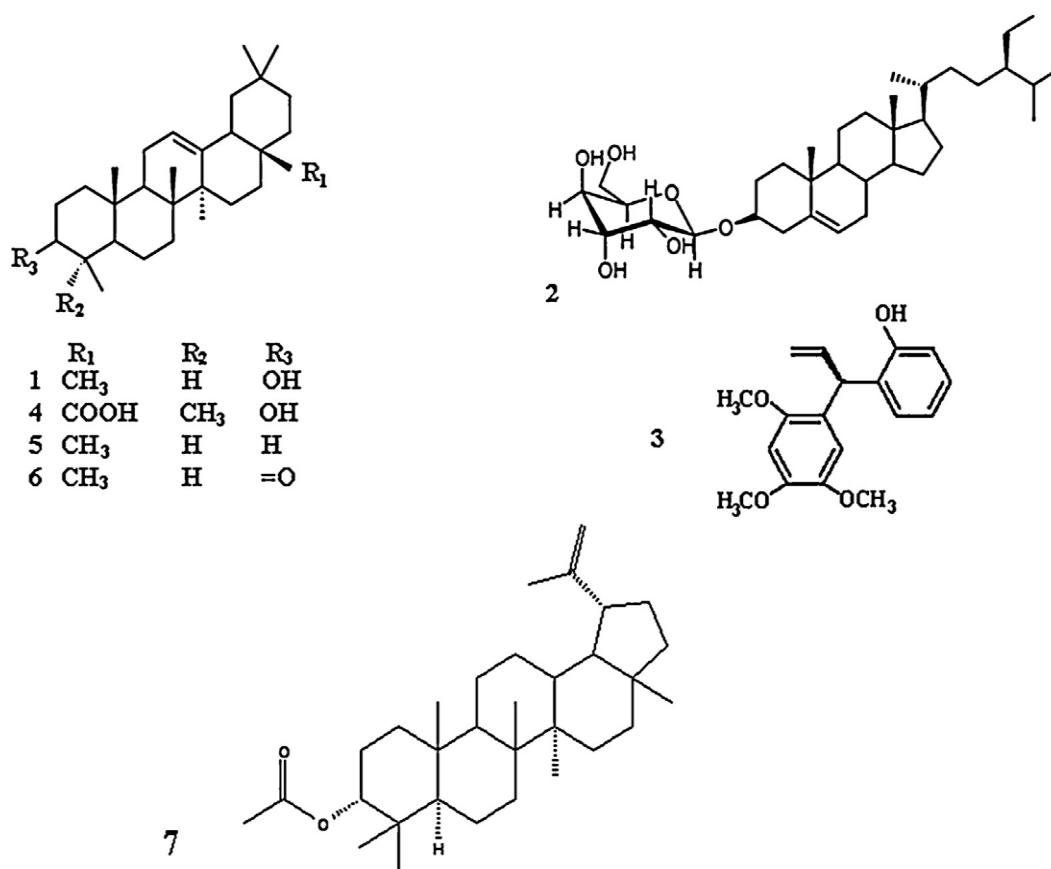


Figura 5. Estructura química de los compuestos aislados de la corteza del tallo de *F. drupacea* L (37).

En el 2018, se evaluó el potencial de cicatrización de heridas de los extractos de corteza de *F. racemosa* utilizando ensayo de herida de rasguño (SWA, siglas en inglés) como un modelo de cicatrización in vitro y se pudo identificar los posibles constituyentes (Ver Figura 6) mejoran la migración celular como lupeol (1) y β -sitosterol (2) mediante procedimientos de fraccionamiento dirigidos por bioactividad. También se determinó que el acetato de lupeol (3) que está presente en la corteza de *F. racemosa* se hidroliza para formar lupeol (1) en presencia de células y, por lo tanto, actúa como un profármaco para mejorar la migración celular. Asimismo, se demostró que los

extractos de acetato de etilo y metanol de la planta exhiben actividad antimicrobiana contra las especies de *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Saccharomyces*, así como *Candida albicans*. Esta doble acción de la corteza del tallo de *F. racemosa* proporciona apoyo científico para su uso tradicional en la curación de heridas (38).

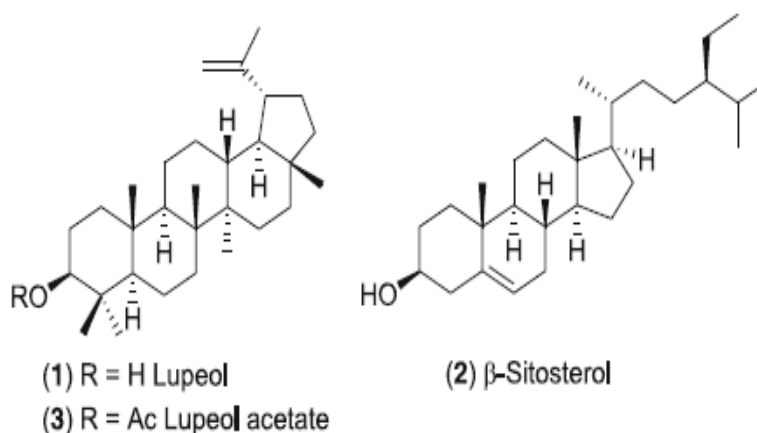


Figura 6. Estructuras químicas extraídos de *F. racemosa* (38).

La investigación fitoquímica de la corteza del tallo de *Ficus racemosa*, realizado en el 2018, produjo gliceril linolildistearina (1), gliceril 1-linolil-2-oleio-3-fosfato (2), gliceril 1,2-dioleio-3-fosfato (3), ácido gálico (4), (Z) -n-hexatriacont-12-en-1-ol (5), 6 β -hidroxilupdienolil 3 β -oleato (6), estigmast-5-en-6 α -ol-26-oico 3 β -linolenato de ácido (7) y glucuronosil- (6 \rightarrow 1 ') glucósido (8) (Ver Figura 7). La corteza del tallo de *Ficus religiosa* proporcionó ácido araquídico (9), gliceril-1-oleil-2-palmitil-3-estearato (10), 1,2,3-trioleil β -D-arabinosido (11), glicerilo 1,2 -diacil-3-fosfatos (12-14) y ácido 2- (2'-oleil glucosil) galico (15) (Ver Figura 7). Estos metabolitos secundarios podrían ser los responsables de los efectos cicatrizantes de la corteza de ambas especies, por ser los compuestos mayoritarios de esta droga vegetal. Es necesario mayores investigaciones con la finalidad de conocer a profundidad sus propiedades bioactivas de los compuestos aislados y su potencial uso en la industria farmacéutica y cosmética (39).

2.2.2. Piel

- **Estructura y función de la piel**

La piel es el órgano más grande y más visible del cuerpo, que comprende hasta el 15-20% del peso corporal total. Recibe aproximadamente un tercio del suministro de sangre del cuerpo a una velocidad de 300 ml / minuto (40). Además, es una membrana fibroelástica, considerada por algunos autores como la “envoltura viva del cuerpo” (41). En un sentido general, la estructura de la piel es representativa de muchos órganos. La capa exterior de tejido epitelial descansa sobre tejido conectivo que contiene suministro de sangre, nervios, en algunos casos músculos y estructuras glandulares derivadas del epitelio. Aunque en ocasiones pasamos por alto la importancia de nuestra piel, ésta es de tal manera esencial como barrera contra infecciones y contra pérdida de agua, que una destrucción a gran escala de la piel, por ejemplo, quemaduras extensas, a menudo es mortal. La piel también ayuda a mantener la homeostasis a disipar o conservar el calor corporal, y servir como barrera contra los organismos patógenos (42).

Con fines didácticos la piel está formada por tres capas principales: la capa externa o epidermis, la capa profunda o dermis y el tejido subcutáneo o hipodermis (Ver Figura 8) (43).

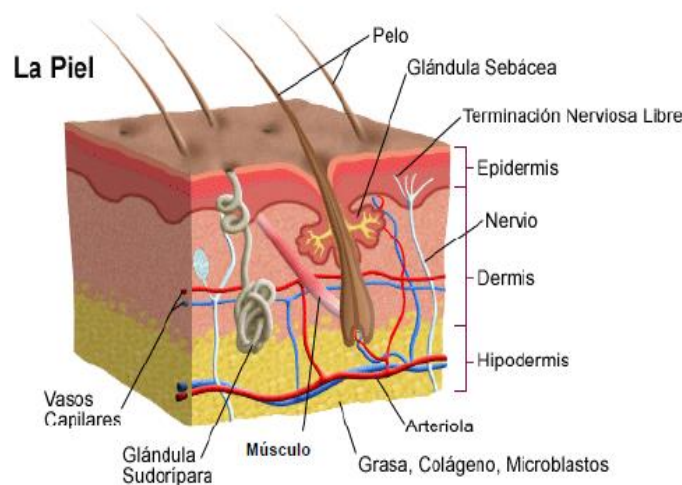


Figura 8. Estructura de la piel (43).

- **Epidermis**

Es un conjunto especializado de capas de tejido epitelial (estratificado) (Ver Figura 8 y 9). Está recubierta por una capa protectora de células muertas producidas por las células vivas epidérmicas subyacentes. Éstas células muertas forman un paquete con queratina proteínica, lo cual ayuda a que la piel sea elástica, resistente y relativamente impermeable (42).

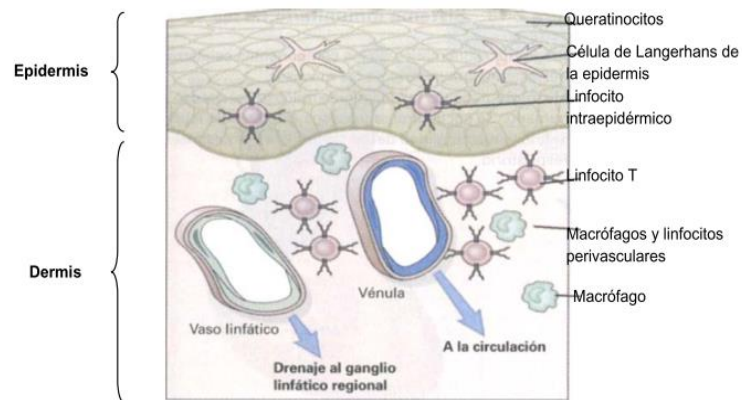


Figura 9. Estructura y componentes celulares de respuesta inmune de la piel (44).

- **Dermis**

Es un tejido conjuntivo fibroso con espesor medio de 3-5 mm (44), donde se encuentran los anexos cutáneos como los folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas (Ver Figura 8 y 9). Constituye el 95% del espesor total de la piel (45). La capa dérmica es de tejido conjuntivo irregular, compuesto por estructuras proteicas como fibras de colágeno, elastina, reticulina y fibronectina. Sus funciones son protectoras e inmunológicas, es la segunda línea de defensa mecánica contra traumatismos, es el sostén de la piel y es esencial para la termorregulación y lubricación (43).

- **Hipodermis o tejido subcutáneo**

Soporta y ancla la epidermis y la dermis al tejido corporal subyacente (40). Además, contiene macrófagos, fibroblastos y células cebadas, así como nervios, vasos linfáticos y sanguíneos que irrigan la piel (Ver Figura 8 y 9) (43). El grosor de esta capa está

influenciado por la edad, la herencia y la ingesta nutricional. Almacena aproximadamente el 50% del suministro de grasa del cuerpo. Las funciones principales de esta capa son la protección, el aislamiento, la energía y la forma del cuerpo (40).

2.2.3. Herida

Herida es el área donde queda interrumpida la continuidad tanto anatómica, como celular de las cubiertas externas del cuerpo (piel), de revestimiento mucoso o de la superficie de los órganos (43).

- **Tipos de heridas**

Herida aguda: proceden normalmente siguiendo una vía de curación oportuna y ordenada, con el resultado final de una restauración funcional y anatómica. El tiempo de curación suele oscilar entre 5 y 10 días, o dentro de los 30 días (5).

Herida crónica: son aquellas heridas que no progresan a través de las etapas normales de curación y no pueden repararse de manera ordenada y oportuna (45).

2.2.4. Proceso de reparación o cicatrización de heridas

El proceso de cicatrización de heridas tradicionalmente se ha dividido en tres fases distintas: inflamación, proliferación y remodelación (46).

- **Hemostasia e inflamación (desde Inmediatamente después de la lesión hasta día 4)**

La fase inflamatoria se caracteriza por hemostasia e inflamación. El colágeno expuesto durante la formación de la herida activa la cascada de coagulación (tanto la vía intrínseca como la extrínseca), iniciando la fase inflamatoria. Después de la lesión, las membranas celulares liberan los potentes vasoconstrictores tromboxanos A₂ y prostaglandinas. El coágulo que se forma está compuesto por colágeno, plaquetas, trombina y fibronectina, y estos factores liberan citoquinas y factores de crecimiento que inician la respuesta inflamatoria. El coágulo de fibrina sirve como andamiaje para las células que llegan, como los neutrófilos, los monocitos, los fibroblastos y las células endoteliales (Ver Figura10). También sirve para concentrar las citocinas y los factores de crecimiento (46).

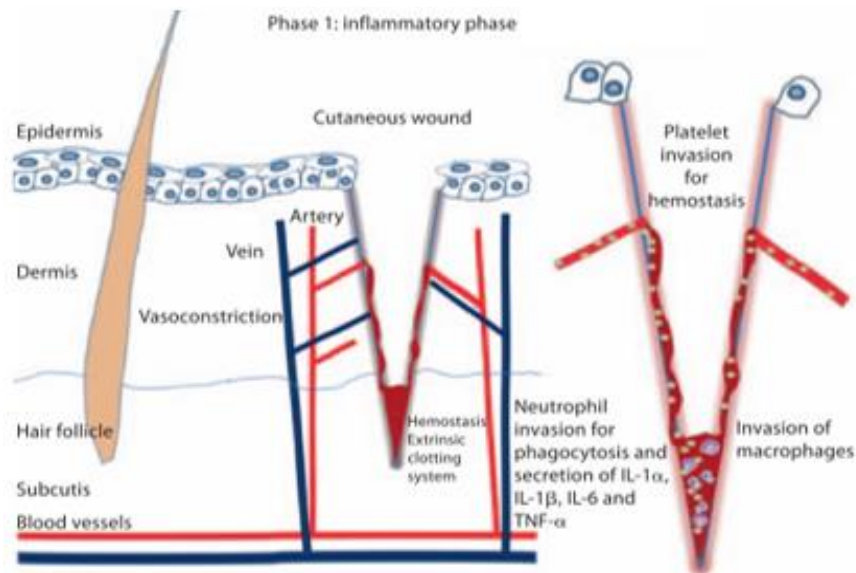


Figura 10. Fase inflamatoria después de un corte cutáneo; Hemostasia e invasión de células inflamatorias (47).

- **Fase proliferativa (epitelización, angiogénesis y formación de matrices provisionales; días 4 a 14)**

La epitelización, la angiogénesis, la formación de tejido de granulación y la deposición de colágeno son los pasos principales en esta parte del edificio de la cicatrización de la herida. La epitelización ocurre temprano en la reparación de la herida. Si la membrana basal permanece intacta, las células epiteliales migran hacia arriba en el patrón normal. Las células progenitoras epiteliales permanecen intactas debajo de la herida (en los apéndices de la piel), y las capas normales de epidermis se restauran en 2 a 3 días. Si la membrana basal ha sido destruida, entonces las células epiteliales ubicadas en el borde de la piel comienzan a proliferar y envían proyecciones para restablecer una barrera protectora. La angiogénesis, estimulada por $TNF-\alpha$, está marcada por la migración de células endoteliales y la formación de capilares. La fase de granulación y la deposición de tejido requieren nutrientes suministrados por los capilares, y si esto no ocurre, se produce una herida crónica sin cicatrizar (Ver Figura 11) (46).

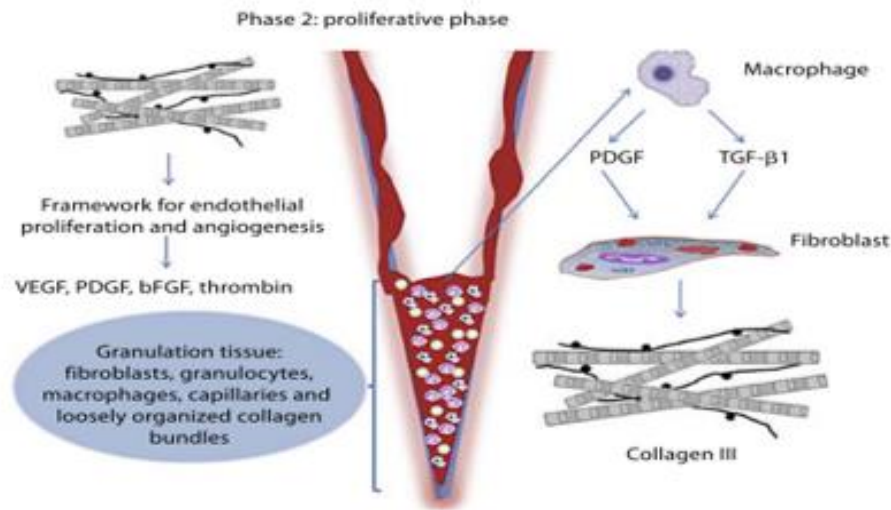


Figura 11. Fase proliferativa; organización del trombo, secreción de factores de crecimiento, síntesis de colágeno III y comienzo de la angiogénesis (47).

- **Maduración y remodelación (día 8 a año 1)**

Clínicamente, la fase de maduración y remodelación es quizás la más importante. La característica principal de esta fase es la deposición de colágeno en una red organizada y de buenos modales (Ver Figura 12). Si los pacientes tienen problemas de deposición de la matriz (debido a una dieta o enfermedad), la resistencia de la herida se verá muy comprometida; si hay una síntesis excesiva de colágeno, puede producirse una cicatriz hipertrófica o queloide (46).

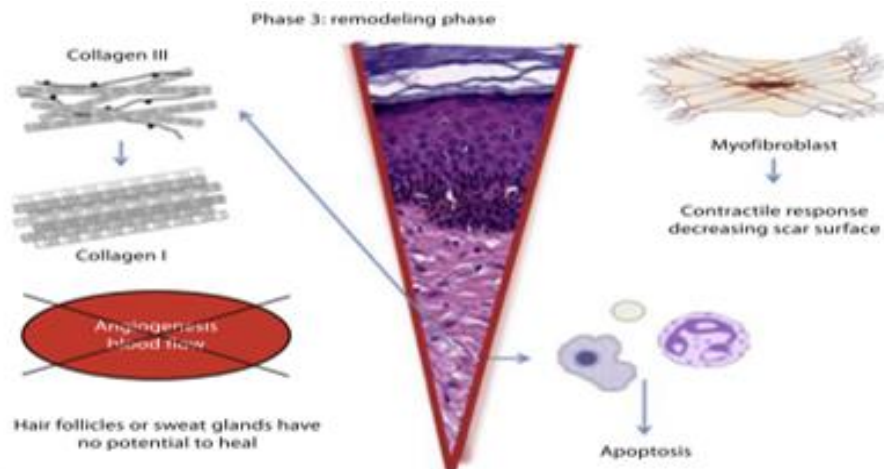


Figura 12. Fase de remodelación; los procesos regenerativos se desvanecen y son seguidos por la reorganización de tejido conectivo y la respuesta contráctil (47).

2.2.5. Factores que influyen en la cicatrización

La cicatrización es un evento complejo y el proceso de reparación de la herida puede afectarse tanto por elementos locales como sistémicos o generales.

- **Factores de acción local (controlables)**

Los elementos locales son aquellos que existen en el tejido de la herida e incluyen: la cantidad de exudado, un equilibrio bacteriano anormal o una infección local, la presencia de cuerpos extraños, el suministro vascular al área, la presión, la fricción y el corte, así como el trauma repetitivo del área y las prácticas de manejo de heridas que afectan la temperatura del lecho de la herida, reduciendo la proliferación celular.

- **Factores de acción general (poco o no controlables)**

Los elementos sistémicos o generales que afectan la cicatrización de las heridas son: edad, sexo, movilidad, cánceres, nutrición, estrés, enfermedades crónicas como diabetes mellitus, insuficiencia respiratoria, cardíaca, renal o hepática, y afecciones que inducen un estado inmunocomprometido, así como trastornos vasculares y tabaquismo que afectan el suministro venoso y arterial a la herida. Varios medicamentos también han sido implicados en la desaceleración el proceso de curación de la herida, incluidos los glucocorticoides, antiinflamatorios no esteroideos y agentes de quimioterapia (48).

Sin embargo, las principales causas que hacen que la cicatrización de heridas no se lleve adecuadamente son **la hipoxia, isquemias, infecciones, edema y anormalidades metabólicas** (43).

2.2.6. Tipos de cicatrización

- **Cicatrización por primera intención**

El ejemplo más simple de este tipo de cicatrización son las heridas quirúrgicas generalmente; es decir, la herida se cura cuando los bordes de la herida se juntan para que estén adyacentes entre sí, incluido el injerto de piel o el cierre primario. El cierre

de la herida se suele ayudar con suturas (puntos), grapas, cinta adhesiva o pegamento y la curación comienza a las pocas horas del cierre (6). La lesión tisular causa escaso daño de tejido epitelial y conjuntivo. En consecuencia, la reparación epitelial predomina sobre la fibrosis(Ver Figura 13) (44).

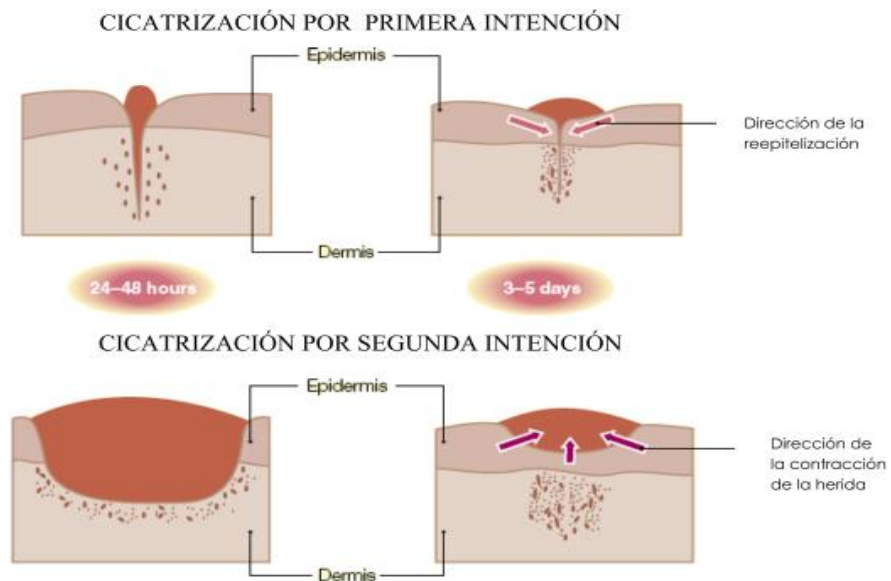


Figura 13. Cicatrización por primera y segunda intención (44).

- **Cicatrización por segunda intención**

El cierre secundario de la herida, también conocido como curación por intención secundaria, describe la curación de una herida en la que los bordes de la herida no pueden aproximarse. El cierre secundario requiere que se construya una matriz de tejido de granulación para rellenar el defecto de la herida. Este tipo de cierre requiere más tiempo y energía que el cierre de la herida primaria y crea más tejido cicatricial. La mayoría de las heridas se cierran por cierre de la herida secundaria (Ver Figura 13) (44).

2.2.7. Tratamiento de heridas

El tratamiento básicamente se enfoca a reducir la carga biológica de las bacterias y requiere la combinación de agentes antimicrobianos con el balance de humedad y, cuando sea necesario, el desbridamiento. Los agentes tópicos de uso frecuente son

pomadas o cremas antibióticas. Sin embargo, el uso de estos agentes tópicos, en lugar de un apósito o desbridamiento, tiene desventajas que incluyen: potencial de dermatitis de contacto, espectro antimicrobiano estrecho, no proporciona equilibrio de humedad, no proporcionará ningún desbridamiento, incluido el autolítico, y una mutación de bacterias puede resultar en resistencia antimicrobiana. Otros tratamientos Incluya lo siguiente:

- La plata, combinada con espumas, alginatos, capas de contacto, hidrogeles y colágeno tienen potencial para la acción antiinflamatoria.
- El yodo, como una molécula de cadexómero para la absorción y el desbridamiento autolítico, permite la liberación lenta del antimicrobiano.
- Clorhexidina, polihexametilenbiguanida, en una gasa o relleno de espuma.
- La miel, combinada con alginatos o hidrogel, produce una liberación lenta de peróxido como un apósito antibacteriano.
- El azul de metileno y violeta genciana unidos a una espuma que se libera lentamente en función de la cantidad de exudado proporciona cobertura antimicrobiana (49).

2.2.8. Sulfadiazina de plata

La sulfadiazina de plata (SP), 4-amino-N-2-pirimidilbencensulfonamida- monoargénica (Ver Figura 14) (50), es esencialmente la combinación de dos agentes antimicrobianos: Ag⁺ y sulfadiazina. Introducida en 1960, se usa como antibiótico para las quemaduras y heridas por su acción bactericida contra muchas bacterias gram negativas y gram positivas, así como contra las levaduras (51), (52).

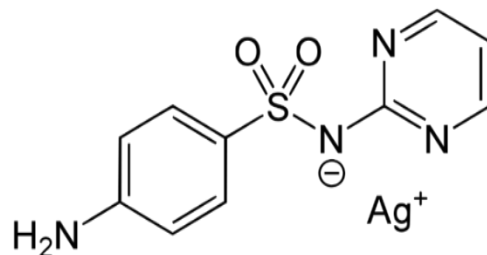


Figura 14. Fórmula química de Sulfadiazina de plata (50).

- **Características de la sulfadiazina de plata**
 - Fórmula Molecular: C₁₀H₉AgN₄O₂S

- Peso Molecular: 357,14 g/mol
- Propiedades: Sólido blanco, insoluble en agua helada.

- **Propiedades farmacológicas**

La sulfadiazina de plata, a diferencia de otras sulfonamidas, posee dos mecanismos de acción, promovidos por el ión plata y por la sulfadiazina por acciones individuales o en forma sinérgica (50).

Los iones de plata forman complejos con proteínas bacterianas, que provocan daños en la membrana celular, las enzimas o el ADN, y dañan de manera irreversible las bacterias (53). La manifestación dominante de la reacción de sulfadiazina de plata con organismos sensibles puede resultar del desplazamiento de los enlaces de hidrógeno dentro del ADN bacteriano. Una vez que estos enlaces que sirven para conectar las dos cadenas de la doble hélice del ADN se desplazan, la replicación bacteriana y la viabilidad celular se reducen de manera efectiva (52).

Por otro lado, la sulfonamida asociada interviene en la síntesis de ácido fólico como inhibidor competitivo con el ácido p-aminobenzoico (PABA) al poseer una estructura similar. Además, inhibe a la dihidroterato sintetasa, responsable del precursor del ácido fólico. Tiene una acción más selectiva que el ión plata, ya que las bacterias, a diferencia las células eucarióticas, necesitan sintetizar el ácido fólico, por lo que son muy sensibles al ataque de la sulfonamida (50).

- **Efectos adversos**

Los efectos adversos de la terapia de plata tópica son limitados; la toxicidad de la plata o la argirosis es poco común y generalmente se resuelve con el cese de la terapia. Si bien los efectos secundarios son poco frecuentes, pueden incluir reacciones locales en la piel como picazón, erupción cutánea y, en raras ocasiones, decoloración de la piel de color gris parduzco. Trombocitopenia y la leucopenia transitoria autolimitada se encuentra en 5 a 15% de los pacientes tratados con sulfadiazina de plata.

2.2.9. Fundamentos de métodos fitoquímicos

a. Maceración

Es un sistema de extracción sólido-líquido de tipo discontinuo (54) . Consiste en poner en contacto la droga seca triturada con el disolvente utilizado para la extracción a temperatura ambiente, manteniéndolo todo en agitación durante un tiempo determinado que depende de las características de la droga y de la naturaleza de los principios activos (normalmente días). Se utiliza como solvente normalmente agua, glicerina o mezclas hidroalcohólica. A continuación se decanta el conjunto obteniéndose por una parte el extracto líquido con los principios activos y por otra un residuo de droga denominado marco (55).

b. Extractos

Preparaciones con consistencia líquida, sólida o semisólida obtenidas a partir de material vegetal utilizando solventes (como etanol, metanol, etc.) para separar los componentes de interés del material vegetal (56).

c. Tipos de extractos

Extractos líquidos: es una preparación líquida de materia vegetal que contienen etanol, agua, vinagre, aceite vegetal o glicerina (o una mezcla, por ejemplo, etanol acuoso) como disolvente. El término líquido indica un material que se puede verter y se ajusta a su recipiente a temperatura ambiente.

Extractos Blandos: poseen consistencias entre las de los extractos líquidos y las de los extractos secos, y se obtienen por evaporación parcial del disolvente (por ejemplo, agua, alcohol o mezcla hidroalcohólica) utilizada para la extracción (56).

Extractos Secos: se obtienen por evaporación total de disolvente y tienen una consistencia de polvo. Presentan una concentración muy superior de principio activo de la droga original. Son preparados bastante estables (aunque en muchas ocasiones

resultan higroscópicos) y de fácil manipulación que se pueden preparar tinturas, extractos fluidos, etc.

Crioextractos: se obtienen de la droga fresca congelada de los que se extraen los principios activos mediante hidrogeno líquido, luego se añade alcohol etílico. Los crioextractos resultan muy caros, pero son muy útiles para la obtención de encimas y proteínas de ciertas especies (54).

d. Tamizaje fitoquímico

De acuerdo con este método para la marcha fitoquímica de Miranda M (citado por Ruíz et al.,2010), cada muestra es sometida a la acción extractiva de solventes de polaridad creciente, modificando el pH del medio con el fin de obtener los metabolitos secundarios de acuerdo a su solubilidad, para luego llevar a concentrar dichos extractos utilizando destilación al vacío con lo cual podemos secar el extracto. Luego de separar las fracciones se realizará la identificación de los metabolitos secundarios haciendo uso de reactivos de coloración y/o precipitación (57).

e. Separación liquido-líquido

Se conoce con el nombre de extracción líquido- líquido al proceso de separación de los componentes de una solución que dependen de la distribución de los componentes entre dos líquidos inmiscibles.

El requisito mínimo para la extracción de líquido, es el contacto íntimo de los dos líquidos inmiscibles, con el fin de que se produzca la transferencia de masa de constituyentes de un líquido (o una fase) a otro, seguida por la separación física de los dos líquidos inmiscibles.

- **Ley de distribución**

Esta ley enunciada por Walther Nernst, indica que un soluto se distribuye entre dos solventes inmiscibles en equilibrio, de tal manera que las concentraciones del soluto

en las dos fases, a una temperatura dada es una constante si la condición molecular del soluto en las dos fases es la misma (Ver Ecuación 1).

$$\text{Ecuación 1: } K = X_{BS} / X_{BA}$$

K: coeficiente de distribución; X_{BS} : fracción en peso de B en una solución rica en S; X_{BA} : fracción en peso de B en una solución rica en A (58).

f. Cromatografía de Capa Fina (CCF)

La cromatografía de capa fina es una técnica de separación que implica varios pasos. Primero, una solución hecha de una muestra se aplica a una placa recubierta. El solvente portador de la solución de muestra se evapora y deposita la muestra en un punto o zona pequeños en el origen de la placa. La placa se coloca luego en un recipiente sellado que contiene un pequeño volumen de una mezcla de disolventes apropiada. A medida que la mezcla de disolvente se desplaza por la placa por acción capilar, los componentes de la muestra se desplazan a diferentes velocidades debido a su interacción con el recubrimiento de la placa (la fase estacionaria) y el sistema de disolvente en movimiento (la fase móvil). Este proceso se denomina desarrollo de la placa. La placa está desarrollada para lograr manchas o bandas separadas. Luego se retira la placa del sistema de solvente y se visualizan los componentes de la muestra. Por lo general, esto implica hacer reaccionar el componente con un reactivo que produce manchas visibles o fluorescentes cuando se observa bajo luz normal o ultravioleta. Este patrón de manchas visto para la muestra de aglomerante se llama cromatograma (59).

g. Factor de retención (Rf)

Un parámetro que se usa a menudo para la evaluación cualitativa es el valor R_f (factor de retención) o el valor de 100 veces $h R_f$ (59). Se calcula como la relación de la distancia recorrida por el soluto (componente), a la distancia recorrida por el frente de fase móvil (Sherma 1991). Esto se puede expresar como (60):

Ecuación 2:
$$R_f = \frac{\text{Distancia desde el origen de la mancha (a)}}{\text{Distancia desde el origen al frente de eluyente (b)}}$$

Es decir, los valores R_f están entre 0 y 1, mejores valores se consideran entre 0.1 y 0.8 (es decir, 10 - 80 para R_f). Sin embargo, si se desean obtener valores de R_f reproducibles, es esencial que varios parámetros, como la saturación de la cámara, la composición constante de las mezclas de disolventes, la temperatura constante y otros, se controlen estrictamente (59).

h. Reveladores cromatográficos

- **Cloruro de hierro (III)**

- A. Solución de cloruro de hierro (III) al 1 o 5 % en ácido clorhídrico 0,5N, o
- B. Solución de cloruro de hierro (III) al 10% en agua.

Aspersar y observar manchas azules o verdes de fenoles o rojos de ácidos hidroxinámicos.

Detección: fenoles y ácidos hidroxinámicos.

- **Reactivo de Dragendorff según Munier**

Solución a: disolver 1,7 g de nitrato básico de bismuto en 20 g de ácido tartárico en 80 mL de agua.

Solución b: disolver 16 g de ioduro de potasio en 40 mL de agua.

Solución de reserva: mezclar volúmenes iguales de soluciones a y b, conservar en refrigeración.

Para usar: disolver 10 g de ácido tartárico en 50 ml de agua y agregar 5 mL de solución de reserva.

Detección: alcaloides y otros compuestos nitrogenados.

- **Reacción de Borntrager**

Solución de hidróxido de potasio al 5% o 10% en etanol (o metanol).

Aspersar y evaluar al Vis o UV 365 nm.

Detección: cumarinas (azul, UV 365 nm), antrona (amarilla, UV 365 nm), antraquinona (roja).

- **Reactivo de Liebermann – Burchard**

Mezclar 5 mL de ácido acético y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Esta mezcla se agrega con cuidado y enfriando, a 50 mL de etanol (preparado poco antes de su uso).

Aspersar y calentar 10 minutos a 100° C. Manchas fluorescente a la luz UV 365 nm.

Detección: Δ^5 -3- esteroides; otros esteroides y glicósidos terpénicos.

- **Vainillina – ácido sulfúrico**

Solución a: solución etanólica de ácido sulfúrico al 50%.

Solución b: solución etanólica de vainillina al 1%.

Aspersar con a luego con b. calentar 5-10 minutos a 110°C.

Evaluar la placa en el Vis. Las coloraciones son similares a las obtenidas con anisaldehído - ácido sulfúrico (azul, verde, rojo y marrón). Además, algunos compuestos fluorescen bajo la luz UV- 365 nm.

Detección: aceites esenciales, terpenoides, esteroides, derivados del fenilpropano, fenoles y otros.

- **Cloruro de aluminio**

Solución de cloruro de aluminio al 1% en etanol.

Aspersar y observar fluorescencia amarilla a la luz UV -365 nm.

Detección: flavonoides (11).

2.2.10. Fundamentos de métodos farmacotécnicos

- **Geles**

Se denominan geles a coloides transparentes, sistema de dos componentes rico en líquido, de naturaleza semisólida que se licuan al calentarse en contacto con la piel, dejando una capa no grasa y no oclusiva. Es un excipiente versátil ya que puede usarse en cualquier parte del tegumento, incluyendo el cuero cabelludo o la cara (61).

2.2.11. Fundamentos de métodos farmacológicos

a. Método tensiométrico – modelo de insición

Según Lazo et al. (2013), el método tensiométrico se fundamenta en la adición de la fuerza de tensión expresado en gramos necesaria para abrir una herida incisa de 1 cm de longitud, perpendicular al eje del animal, producidas mediante bisturí en la piel del lomo del ratón (54). El modelo de referencia de Vaisberg A., indica que la fuerza necesaria para abrir la herida está relacionada directamente con el proceso de cicatrización, así una menor fuerza para abrir la herida será interpretada como una cicatriz mal consolidada; en cambio, una mayor fuerza implica un proceso de cicatrización favorable (62).

b. Estudio histopatológico

Montalvo CE.(2010), define al estudio histopatológico como el conjunto de procedimientos aplicados a un material biológico (animal o vegetal) con la finalidad de prepararlo y conferirle las condiciones óptimas para poder observar, examinar y

analizar sus componentes morfológicos a través de los microscopios fotónicos y electrónicos (63).

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

El gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill posee efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos.

2.3.2. Hipótesis específicas

1. Las clases de metabolitos secundarios presentes en el gel a base del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill son los responsables del efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos.
2. Existen diferencias de efectos cicatrizantes del gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% respecto a las fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill en ratones albinos.
3. El gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill posee buen efecto cicatrizante respecto a la crema sulfadiazina de plata 1% en ratones albinos

2.4. Variables

Variable independiente: Gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill.

Variable dependiente: Efecto cicatrizante.

2.4.1. Tabla de Operacionalización de Variables

La tabla 1 describe la operacionalización de variables.

Tabla 1. Operacionalización de variables e indicadores

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES				
V1. INDEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ITEMS	INSTRUMENTO
Gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo, metanol) de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	Fitoquímico	Identificación de grupos de metabolitos secundarios por Tamizaje fitoquímico de extracto hidroalcohólico	Coloración y/o precipitación de las reacciones para cada grupo de metabolitos secundarios	Ficha de observación Ad Hoc.
		Identificación de metabolitos secundarios por cromatografía de capa fina de las fracciones	Valor del Rf de las manchas de los cromatofolios	
V1. DEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ITEMS	INSTRUMENTO
Efecto cicatrizante	Farmacológico	Fuerza de tensión expresado en gramos para abrir la herida	Peso en gramos de arena necesario para abrir la herida	Ficha de observación Ad Hoc.
		Observación microscópica del ambiente del tejido cicatrizal	Presencia de macrófagos, fibroblastos, fibras de colágeno, edema y epidermis	Ficha de observación Ad Hoc.

Fuente: Elaboración propia

2.5. Marco conceptual

- a. Biopsia:** (del griego bios = vida y ophis = visión), consiste en la toma de un fragmento de tejido u órgano de un ser vivo. realizada a través de una operación quirúrgica hecha exprofesamente o durante la intervención quirúrgica efectuada en pacientes y corroborar así un diagnóstico de una determinada lesión (63).
- b. Ad hoc:** que se creó para un fin específico; que tiene un propósito determinado (64).
- c. Incisión:** la incisión tiene por objeto crear una solución de continuidad en el tejido, que permita extirpar un fragmento del mismo o acceder a los tejidos profundo (65).
- d. Cicatrización:** es el proceso normal que se presenta en los seres humanos para regenerar el tejido epidérmico y dérmico. Cuando un individuo presenta una herida (ruptura de un tejido intencional o accidental), una serie de eventos bioquímicos complejos se presenta para reparar el tejido dañado (66).
- e. Grupo control:** Un grupo o subgrupo de la muestra que no recibe el tratamiento experimental, con la finalidad de lograr la igualdad de los grupos en términos de

sus principales características para eliminar el efecto Hawthorne (los sujetos se comportan de la manera que consideran adecuada para el experimento realizado) (64).

- f. **Materia prima:** cualquier sustancia activa o inactiva de calidad definida, usada en la producción de un producto farmacéutico, excluyendo los materiales de envases primarios y secundarios (67).
- g. **Gel:** preparación semisólida de dosis única o multidosis que consta de una base de fase única de líquido gelificado por un agente gelificante adecuado (68).
- h. **Droga vegetal:** es la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica (43).
- i. **Principios activos:** son las sustancias responsables de la acción farmacológica (69).
- j. **Eutanasia:** es la acción u omisión, por parte del médico u otra persona, con la intención de provocar la muerte del paciente terminal o altamente dependiente, por compasión y para eliminarle todo dolor (70).
- k. **Herida traumática;** una herida traumática es una herida contusa caracterizada por bordes desgarrados e irregulares, la presencia de fragmentos de tejido desvitalizados y la presencia de materia extraña (grava, etc.) (71).
- l. **Fibroblasto:** es una célula ubicua que deriva de células primitivas mesenquimales CD45 negativas y pluripotentes. Es una célula residente en el tejido conectivo que sintetiza los componentes de la MEC necesarios para la homeostasis y para la reparación de lesiones (72).
- m. **Antisépticos.** son desinfectantes que se pueden usar en la piel intacta y en algunas heridas abiertas para matar o inhibir los microorganismos. A menudo tienen múltiples dianas microbianas, un amplio espectro antimicrobiano y actividad antiinfecciosa residual, pero a menudo son tóxicas para los tejidos del huésped.
- n. **Antibióticos:** son productos químicos producidos de forma natural (por un microorganismo) o sintéticamente que, en solución diluida, inhiben o matan a otros microorganismos. Por lo general, actúan sobre un objetivo celular específico, tienen un espectro de actividad más estrecho, son relativamente no tóxicos y son más susceptibles a perder su eficacia frente a la resistencia bacteriana (73).

CAPITULO III: MÉTODO

3.1. Tipo de estudio

- **Experimental:** el investigador manipula aleatoriamente la variable independiente y posteriormente valora la variable dependiente (Ver Anexo 2). El uso riguroso del método científico en este tipo de estudio permite establecer una posible relación causa efecto.

3.2. Diseño a utilizar

- **Diseño experimental puro:** según Cambell y Stanley (1966), es el diseño que permite un mayor grado de control y por tanto el que permite las comparaciones científicas más adecuadas. La variable independiente admite la manipulación intencional, goza de gran constancia experimental y como consecuencia de ello su validez interna es elevada (74).

3.3. Población

- Población vegetal: plantas de *Ficus citrifolia* Mill (6 por 25 metros cuadrados).
- Población animal: 350 ratones albinos de la especie *Mus musculus*, lote: M-28-2018 (Ver Anexo 14).

3.4. Muestras

- **Muestra vegetal:** corteza de *Ficus citrifolia* Mill (4,2 kg de muestra fresca).
- **Muestra animal:** ratones albinos de la especie *Mus musculus* (42 miembros), procedente del Centro Nacional de Productos Biológicos (CNPB) del Instituto Nacional de Salud (INS).

3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.5.1. Equipos, materiales y reactivos

a. Equipos

- Equipo de disección
- Dinamómetro
- Micrótopo
- Estufa de desecación marca Kinder
- Rotavapor Heidolph Laborota 4000.
- Molino de cuchillas de acero
- Equipo de cromatografía de capa fina (CCF)
- Lámpara UV-Vis
- Balanza analítica marca sartorius
- Equipo de separación por reparto
- pH- metro
- Equipo de Baño maría código 36145
- Microscopio marca Nikon

b. Materiales

Material biológico

- **Material animal:** por la naturaleza de la investigación que es experimental pre-clínica, el material animal estuvo conformado por 42 ratones albinos, pertenecientes a la especie *Mus musculus*.
- **Material vegetal:** el presente estudio utilizó 4,2 kg de corteza fresca de *Ficus citrifolia* Mill (estrangulador).

Material de laboratorio

- Pipetas de 2 mL, 5 mL y 10 mL
- Cromatofolios marca Macherey – Nagel GmbH & Co.
- Tubos de ensayo de 10 mL y 20 mL
- Beaker de 50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL y 1000 mL
- Baguetas
- Frascos de vidrio ámbar de 60 mL, 120 mL ,2500 mL y 4000 mL
- Pinzas de metal.

- Goteros
- Pipetas Pasteur
- Mascarillas
- Guantes
- Papel de aluminio
- Arena
- Embudos
- Probetas
- Algodón
- Mascarillas y gorro de laboratorio
- Bisturí #21
- Espátulas de 10 cm
- Guantes de látex talla 7 y 8
- Jeringas de tuberculina
- Máquina para rasurar
- Papel filtro
- Gasa estéril
- Crema marca Depilé
- Plumón marcador indeleble
- Frascos de plástico con tapa capacidad 90 mL
- Vasos descartables 150 mL

c. Reactivos

- Acetato de etilo
- Metanol
- Xilol
- Eosina
- Hematoxilina
- Parafina
- Agua destilada

- Reactivo vainillina- ácido sulfúrico
- Ácido clorhídrico
- Tolueno
- Reactivo ninhidrina
- Reactivo de Liebermann – Burchard
- Reactivo de cloruro férrico
- Ácido acético
- Ácido fórmico
- Reactivo de cloruro de aluminio
- Reactivos de Dragendorff,
- Reactivos de Mayer
- Reactivos de Wagner
- Reactivo Sonneschein
- Hipoclorito de sodio
- Cloruro de sodio
- Limaduras de magnesio metálico
- Hidróxido de sodio
- Reactivo gelatina
- Reactivo gelatina- sal
- Reactivo Baljet
- Reactivo de Legal
- Reactivo 2,4-dinitrofenilhidrazina
- Etanol
- Reactivo permanganato de potasio neutro
- Cloroformo
- Reactivo Molish
- Pentobarbital sódico marca Halatal®

3.5.2. Obtención y tratamiento de la droga vegetal

La corteza de *Ficus citrifolia* Mill fue recolectada del distrito de Pebas, provincia de Mariscal Ramón Castilla, región Loreto, en forma de lonjas con peso 4,2 kg. Esta actividad fue realizada por integrantes del grupo de Investigación en Productos Naturales (Ver Anexo 12) y un chamán del lugar. Luego, se realizó la clasificación taxonómica en el Museo de Historia Natural de la UNMSM (Ver Anexo 3).

En el laboratorio de Farmacognosia, de la facultad, se realizó la selección de la droga vegetal, separando la corteza en buen estado de las partes que presentan signos de descomposición y otras sustancias extrañas. Luego, se desinfectó con hipoclorito de sodio a concentración 10 ppm durante 15 minutos. Así mismo, se procedió a deshidratar la corteza de *Ficus citrifolia* Mill mediante estufa de desecación a 40°C hasta obtener peso constante.

En el laboratorio de investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) se realizó la molienda en molino automático de cuchillas de acero, obteniéndose así un tamaño adecuado sin llegar a estado de polvo y se procedió a guardar en frascos de vidrio de color ámbar cerrados herméticamente hasta la extracción por maceración (75).

3.5.3. Obtención del extracto crudo hidroalcohólico de *Ficus citrifolia* Mill

Se maceró la corteza triturada (1.5 kg) de *Ficus citrifolia* Mill en varios recipientes de boca ancha de vidrio con cierre hermético. Se agregó el solvente etanol - agua al 80% (16 litros), a los recipientes que contiene la droga vegetal, verificando que recubra toda la muestra, se cerraron herméticamente los frascos y almacenamos en un lugar oscuro, fresco y seco (54). El proceso de extracción fue de 3 semanas, agitando 15 minutos dos veces al día y renovando el solvente cada semana (76). Transcurrido el tiempo de extracción, se filtró con una gasa y el líquido extractivo se concentró el macerado en el Rota vapor Heidolph Laborota 4000 a temperaturas inferiores a 40°C (54). Luego, llevamos a estufa a una temperatura no mayor de 50°C hasta eliminación total del solvente, obteniéndose así 88,82g de extracto seco de corteza de *Ficus citrifolia* Mill (75).

3.5.4. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico

En agua

Se realizó una dispersión de 0,5 g del extracto crudo en 30 mL de agua, posteriormente se decantó y vertió 2 mL de la solución decantada en 10 tubos de ensayo para realizar el tamizaje fitoquímico correspondiente (11).

En agua acidificada

Se tomó 5 mL de la solución acuosa y se acidificó con 5 mL de ácido clorhídrico (HCl) 5%, se distribuyó en 5 tubos de ensayo con 2 mL cada uno para realizar el tamizaje fitoquímico correspondiente (11).

En metanol

Se realizó una dispersión de 0,5 g del extracto concentrado con 50 mL de metanol (MeOH), posteriormente se decantó y vertió 2 mL de la solución decantada en 12 tubos de ensayo para realizar el tamizaje fitoquímico correspondiente (11).

3.5.5. Fraccionamiento del extracto hidroalcohólico por reparto

El método de separación líquido-líquido consistió en disolver 31,62 g del extracto crudo en agua y fraccionar por reparto con igual volumen de cloroformo, acetato de etilo y metanol por 3 veces, obteniéndose la fracción clorofórmica (FC), fracción acetato de etilo (FAE) y fracción metanólica (FM) (77).

Posteriormente, a las tres fracciones se agregó 1,5 g de sulfato de sodio anhidro (agente higroscópico) y dejado en reposo durante 3 días protegido de la luz. Pasado los 3 días filtramos para separar el sulfato de sodio anhidro y a las fracciones libre del agente higroscópico se llevaron a sequedad usando rota vapor y estufa de desecación a temperatura menor a 50°C.

3.5.6. Cromatografía de capa fina (CCF) de las fracciones (FC, FAE y FM)

Se utilizó como fase estacionaria cromatofolios de la marca Macherey- Nagel en tamaños iguales 10 x 2cm. Las fases móviles a utilizar fueron mezclas de tolueno, acetato de etilo, metanol, agua y ácido acético, de acuerdo al metabolito de interés (Ver Tabla 2). Se analizaron por CCF las fracciones de FC, FAE y FM.

Tabla 2. Sistemas de disolventes para la separación de metabolitos secundarios y reveladores de cromatografía.

FRACCIÓN	SISTEMA ELEGIDO	RELACIÓN ELEGIDA	TAMAÑO DE CROMATOFOLIO	REVELADOR
CLOROFORMO	Ácido acético: metanol: agua	10:1,35:1	10 x 2 cm	Dragendorff según Munier
	Tolueno: acetato de etilo	7:3	10 x 2 cm	Liebermann – Burchard
ACETATO DE ETILO	Ácido acético: metanol: agua	10:1,35:1	11 x 2 cm	Dragendorff según Munier
	Tolueno: acetato de etilo	7:3	10 x 2 cm	Liebermann – Burchard
	Acetato de etilo: methanol	9:1	10 x 2 cm	Borntrager
	Metanol: agua	7:3	10 x 2 cm	Cloruro férrico
	Acetato de etilo: agua	9:1	10 x 2 cm	Cloruro de aluminio
METANOL	Ácido acético: metanol: agua	10:1,35:1	10 x 2 cm	Dragendorff según Munier
	Acetato de etilo: agua	9:1	10 x 2 cm	Cloruro de aluminio
	Metanol: agua	7:3	10 x 2 cm	Cloruro férrico
	Acetato de etilo: methanol	9:1	10 x 2 cm	Borntrager

Fuente: Lock OR.,2016 (11).

El revelado cromatográfico se realizó con reactivos específicos y luego con lámpara de radiación UV de longitud de onda corta y larga (254 y 365 nm) (61), posteriormente se calcularon los valores de R_f (Ver Ecuación 1) (28).

3.5.7. Elaboración de gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (FC, FAE y FM) de *Ficus citrifolia* Mill

En un beaker de 100 mL (beaker 1) previamente calibrado, se procedió a pesar 0,3 g de Carbopol 940 en la balanza analítica, luego se agregó al recipiente propilenglicol y agua purificada de acuerdo a valor calculado en la formulación (Ver Tabla 3), se agitó moderadamente hasta disolución completa y se llevó a pH 6 con gotas de trietanolamina.

Por otro lado, en otro beaker de 50 mL (beaker 2) se disolvió el extracto crudo hidroalcohólico y fracciones (FC, FAE y FM) de acuerdo a valores de la formulación

(Ver Tabla 3) en una mezcla de propilenglicol: etanol (1: 6). Luego, se adicionó el contenido de beaker 2 en 1 con agitación moderada.

Posteriormente, se verificó el peso final del gel y se dejó en reposo hasta su enfriamiento en sus respectivos envases previamente etiquetados (78).

Tabla 3. Formulación para la preparación de gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (FC, FAE, FM) de *Ficus citrifolia* Mill

INGREDIENTES	Gel de EHA 1%	Gel de FC 0.5%	Gel de FAE 0.5%	Gel de FM 0.5%	BG
Principio activo	0,50 g	0,25 g	0,25 g	0,25 g	
Agua purificada	40,70 g	40,95 g	40,95 g	40,95 g	41,20 g
Carbopol 940	0,30 g	0,30 g	0,30 g	0,30 g	0,30 g
Propilenglicol	2,00 g	2,00 g	2,00 g	2,00 g	2,00 g
Alcohol 96°	6,00 g	6,00 g	6,00 g	6,00 g	6,00 g
Trietanolamina	0,50 g	0,50 g	0,50 g	0,50 g	0,5 g
Peso del gel	50,00 g	50,00 g	50,00 g	50,00 g	50,00 g

EHA: extracto hidroalcohólico; FC: fracción cloroformo; FAE: fracción acetato de etilo;

FM: fracción metanol y BG: base de gel

Fuente: Elaboración propia

3.5.8. Ensayo del efecto cicatrizante de herida por método tensiométrico

Ratones machos de la especie *Mus musculus* (cepa Balb/c/CNPB) de 10 semanas de edad, cuyos pesos fueron de 30 a 35 g, se mantuvieron en una habitación a temperatura de 22 a 25 ° C, y recibieron alimentos y agua ad libitum. Antes de hacer las incisiones, los ratones se afeitaron al nivel del tercio inferior del lomo utilizando crema Depilé (Biokox. S.A). 48 horas después, se tomaron los pesos de los ratones y se distribuyeron al azar en 6 grupos de 7 miembros colocando los grupos en jaulas individuales (62).

Tabla 4. Grupos del ensayo experimental y tratamientos.

GRUPOS EXPERIMENTALES Y TRATAMIENTOS						
GRUPOS	GI	GII	GIII	GIV	GV	GVI
TRATAMIENTOS	Gel de EHA 1%	Gel de FC 0.5%	Gel de FAE 0.5%	Gel de FM 0.5%	Crema de SDP 1%	BG
CONTROLES	M	M	M	M	CONTROL +	CONTROL -
NÚMERO DE RATONES	7	7	7	7	7	7

M: muestras; EHA: extracto hidroalcohólico; FC: fracción cloroformo; FAE: fracción acetato de etilo; FM: fracción metanol; SDP: sulfadiazina de plata y BG: base de gel.

Fuente: Elaboración propia

A continuación, los ratones se anestesiaron con pentobarbital sódico a una concentración de 50 mg/ kg y se realizó en la piel dos incisiones de 1 cm perpendicular al eje de simetría del animal (54). El tratamiento se inició inmediatamente y cada 12 horas se aplicó gel de EHA, FC, FAE y FM. Así mismo, el control positivo recibió como tratamiento crema SDP y el control negativo, BG (Ver Tabla 4 y Anexo 10). Después de 5 días, los ratones se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico y la resistencia a la apertura de la herida (WAH) se cuantificó fijando uno de los bordes de la herida mientras se aplicaba una fuerza medible a la otra. En seguida, se midió el porcentaje de efectividad de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de efectividad} = \frac{WAH_t - WAH_c}{WAH_c} \times 100$$

Donde WAH_t fue la fuerza media necesaria para abrir las heridas de un ratón tratado; y WAH_c fue la fuerza media necesaria para abrir la herida de un ratón no tratado (control negativo). El valor de la fuerza fue expresado en gramos de arena necesaria para abrir la herida del ratón (62).

3.5.9. Estudio histopatológico

Los procedimientos de estandarización de los animales, distribución aleatoria, depilación, incisión de la piel y aplicación de los tratamientos se realizó en forma similar a lo descrito en método tensiométrico (62). Después de practicar eutanasia de los ratones con una sobre dosis de pentobarbital sódico vía intraperitoneal, se obtuvieron los cortes histológicos, dos por grupo, realizando un corte de 2,5 cm de largo y 2 cm

de ancho alrededor de la cicatriz (51). Éstas muestras, fueron conservadas en frascos estériles con formol diluido al 10%, luego analizados en microscopio electrónico en el Instituto de Patología de la Facultad de Medicina Humana de la UNMSM (Ver Anexo 11) (79).

- **Técnica histológica**

El análisis histológico de cada grupo experimental consistió en someter a las muestras, dos por grupo, a un proceso de deshidratación en alcohol etílico, de manera que se elimine toda el agua de la muestra, luego xilol, para eliminar todo el alcohol etílico y producir el aclaramiento de la muestra. A continuación, se procedió a la infiltración con parafina, esto con la finalidad de lograr la inhibición del tejido. Luego, se obtuvo un bloque sólido de tejido, mediante el enfriamiento lento a temperatura de 10 a 15°C, a este bloque se le llama TACO; el cuál fue sometido en un micrótopo, para realizar el corte sumamente delgado, cuyo grosor fue de 5 a 10 micrómetros (75).

Posteriormente, se fijó los cortes histológicos sobre las láminas portaobjetos cubiertos con una capa de albúmina, donde se adicionó nuevamente xilol, para eliminar la parafina y alcohol en concentraciones decrecientes 100°, 95° y 70°, para rehidratar nuevamente la muestra. En seguida, se procedió a realizar las respectivas coloraciones Hematoxilina – Eosina y observaciones en microscopio electrónico marca Nikon, modelo Eclipse Ci-L del Instituto de Patología de la Facultad de Medicina Humana de la UNMSM (75).

3.5.10. Instrumentos para la recolección de datos

El instrumento de recolección de datos empleado en el estudio fue una ficha de observación ad-hoc, elaborada para los fines pertinentes de la investigación, la cual estuvo conformada por ítems de acuerdo a los indicadores de la operacionalización de las variables. La mencionada ficha fue aplicada únicamente por el investigador y todas las mediciones fueron llevadas a cabo bajo las mismas circunstancias.

3.5.11. Validación de instrumentos

El instrumento que se empleó al ser una ficha Ad-Hoc requirió de validación previa a su aplicación final, la cual se estableció en base a la determinación de su viabilidad, confiabilidad y validez.

La viabilidad del instrumento se alcanzó en base a su sencillez, ya que, al constar de solo dos páginas, y de no requerir procedimientos complejos, la recolección de datos no supuso esfuerzos excesivos por parte del investigador.

La consistencia interna de la confiabilidad del instrumento se evaluó por medio del análisis Alfa de Cronbach para variables politómicas en las mediciones de la última aplicación del instrumento. Con los resultados obtenidos, se estableció la consistencia interna del instrumento al superar el margen mínimo de 0,10. Este resultado se debe, principalmente, cuando las preguntas planteadas toman un solo valor según Soler SF y Soler L.(2012) (80).

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; validez de contenido se obtuvo mediante la evaluación por juicio de 3 expertos, quienes fueron:

1. Dr. Q.F. Bonilla Rivera, Pablo Enrique
2. Mg. Q.F. Acosta Cornejo, Orlando
3. Mg. Q.F. Flores López, Oscar Bernuy

Los jueces calificaron las características del instrumento por medio de una ficha de validación por expertos (Ver Anexo 5), para lo que se le entregó a cada uno la matriz de consistencia interna del estudio (Ver Anexo 1); A nivel de constructo, la validez fue establecida debido a que se alcanzó previamente validez lógica de contenido.

3.6. Procesamiento de datos

Posterior a la recolección de datos se procedió a organizar las fichas de recolección y a enumerarlas para ser ingresadas a la base de datos en Microsoft Excel en su versión de acceso, bajo la codificación planteado por el investigador.

El procesado de los datos se realizó en una laptop de marca Lenovo, número de serie CB16609915, con sistema operativo Windows 10.

La información recolectada fue analizada con el paquete estadístico SPSS, en su versión 22; en la cual se llevó a cabo la aplicación de estadística descriptiva e inferencial para la docimasia de las hipótesis de la investigación, la cual se realizó mediante la aplicación de las pruebas estadísticas ANOVA unidireccional para muestras independientes y HSD Tukey para las comparaciones múltiples.

Tanto los resultados de las pruebas estadísticas descriptivas como inferenciales están expresadas mediante tablas y gráficos.

Los resultados muestrales fueron inferidos a la población mediante estimación por intervalo de confianza a 95%.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Resultados de fraccionamiento por reparto del extracto de *Ficus citrifolia* Mill

Finalizado el proceso de fraccionamiento y evaporación total del solvente, se obtuvieron los pesos de las tres fracciones de diferente polaridad: 0,81 g de FC; 3,84 g de FAE y 14,74g de FM.

4.1.2. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico

Las tablas 5, 6 y 7 muestran los resultados del tamizaje fitoquímico en, agua, agua acidulada y metanol. Asimismo, se presenta fotografías de la coloración y/ precipitación de las reacciones (Ver anexo 6).

Tabla 5. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en H₂O (FH)

ENSAYO	RESULTADO	REACCIÓN POSITIVA	INTERPRETACIÓN
Testigo	-	-	-
Börntrager	+++	Coloración roja	Quínonas
Espumas	-	Formación de espuma	Saponinas
Gelatina	+++	Formación de precipitado	Taninos
Gelatina-sal	+++	Formación de precipitado	Taninos
FeCl ₃	+++	Coloración verde	Taninos no hidrolizables
Legal	-	Coloración rosada	Lactonas α-β insaturadas o cetonas y aldehídos
Baljet	++	Coloración anaranjada	Lactonas α-β insaturadas
Molish	-	Formación anillo violáceo	Carbohidratos
Ninhidrina	-	Coloración violácea	Aminoácidos

Negativo (-), poco (+), moderado (++) , abundante (+++)

Tabla 6. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en H₂O acidificado.

ENSAYO	RESULTADO	REACCIÓN POSITIVA	INTERPRETACIÓN
Dragendorff	+++	Precipitado anaranjado	Alcaloides
Mayer	+	Precipitado blanco lechoso	Alcaloides
Wagner	++	Precipitado marrón	Alcaloides
Sonneschein	+	Precipitado blanco lechoso	Alcaloides
Testigo	-	-	-

Negativo (-), poco (+), moderado (++) , abundante (+++)

Tabla 7. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en MeOH (FM).

ENSAYO	RESULTADO	REACCIÓN POSITIVA	INTERPRETACIÓN
Liebermann Burchard	+	Color rojo	Dobles enlaces (terpenos)
Dragendorff	+	Precipitado anaranjado	Alcaloides
Mayer	+	Precipitado blanco lechoso	Alcaloides
Wagner	+	Precipitado marrón	Alcaloides
Shinoda	+	Coloración rojiza	Flavonoides
Gelatina	+++	Formación de precipitado	Taninos
Gelatina-sal	+++	Formación de precipitado	Taninos
FeCl ₃	+++	Coloración verde	Taninos no hidrolizables
Baljet	+++	Coloración anaranjada	Lactonas α - β insaturados
Legal	+	Coloración rosada	Lactonas α - β insaturadas o cetonas y aldehídos
KMnO ₄	++	Formación de precipitado	Dobles enlaces y oxidables
2,4-DNFH	-	Precipitado anaranjada	Cetonas alifáticas
Testigo			

Negativo (-), poco (+), moderado (++), abundante (+++)

4.1.3. Resultados de cromatografía de capa fina (CCF)

Los resultados de la cromatografía de capa fina se muestran en Tabla 8 y Anexo 8.

4.1.4. Resultados de elaboración de gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (FC, FAE y FM) de *Ficus citrifolia* Mill

Del preparado farmacotécnico, gel del extracto hidroalcohólico y fracciones de *Ficus citrifolia* Mill, se obtuvieron como resultado 50 g de gel a concentración 1% de extracto hidroalcohólico, 50 g de gel a concentración 0,5% de las fracciones FC, FAE, FM y 50 g de gel base (Ver Tabla 3 y Anexo 9).

Tabla 8. Resultados del análisis de metabolitos secundarios por cromatografía de capa fina (CCF).

Fracción	Revelador	Familia de metabolito que identifica	Resultados	Número de manchas	Rf
Cloroformo	Dragendorff según Munier	Alcaloides y otros compuestos nitrogenados	Anaranjado - rojo en fondo amarillo	1	0,65
	Liebermann - Burchard	Triterpenos y esteroides	Δ^5 -3-esteroides; otros esteroides y glicósidos triterpénicos (Amarilla,luz UV-365nm)	5	0,64; 0,67; 0,73; 0,81; 0,96
Acetato de etilo	Liebermann - Burchard	Triterpenos y esteroides	Δ^5 -3-esteroides; otros esteroides y glicósidos triterpénicos (Amarilla,luz UV-365nm)	4	0,39; 0,66; 0,79; 0,96
	Borntrager	Quinonas	Antrona (Amarilla,luz UV-365nm)	1	0,94
	Cloruro férrico	Fenoles y ácidos hidroxámicos	Fenoles (Verde)	2	0,85; 0,95
	Cloruro de aluminio	Flavonoides	Flavonoide (Amarilla,luz UV-365nm)	1	0,90
	Dragendorff según Munier	Alcaloides y otros compuestos nitrogenados	Anaranjado - rojo en fondo amarillo	1	0,38
Metanol	Dragendorff según Munier	Alcaloides y otros compuestos nitrogenados	Anaranjado - rojo en fondo amarillo	1	0,67
	Cloruro férrico	Fenoles y ácidos hidroxámicos	Fenoles (Verde)	1	0,96

4.1.5. Resultados del efecto cicatrizante del gel del extracto hidroalcohólico y fracciones de *Ficus citrifolia* Mill

a) Resultados del método tensiométrico

La fuerza de tensión expresado en gramos de arena necesaria para la apertura de heridas incisas se describe en la Tabla 9.

Tabla 9. Resultados de la fuerza de tensión expresado en gramos de arena necesario para la apertura de heridas del ratón.

GRUPO	Gel EHA 1%	Gel FC 0.5%	Gel FAE 0.5%	Gel FM 0.5%	Crema SDP 1%	BG
Peso en gramos	59,30	65,00	105,00	80,00	94,00	39,00
	49,00	60,60	98,00	89,30	116,00	47,30
	38,80	58,00	104,50	90,00	105,20	52,00
	47,00	67,40	112,00	95,90	105,00	43,00
	59,50	61,00	103,00	104,00	98,10	53,50
	47,00	68,00	106,20	103,00	106,00	55,00
	49,00	68,00	104,00	95,00	98,30	55,10

EHA: extracto hidroalcohólico; FC: fracción cloroformo; FAE: fracción acetato de etilo; FM: fracción metanol; SDP: sulfadiazina de plata y BG: base de gel

Análisis estadístico:

Con respecto a la actividad cicatrizante se usó el método estadístico ANOVA unidireccional para muestras individuales y prueba de comparación múltiple de HSD Tukey del programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versión 22, para relacionar el proceso de cicatrización con el tratamiento (Ver Tablas 10-16 y Figura 10)

Tabla 10. Resultados de las pruebas de normalidad

Pruebas de normalidad							
	Tratamiento por grupo	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Peso en gramos (g)	EHA	,265	7	,146	,887	7	,261
	FC	,225	7	,200*	,869	7	,184
	FAE	,214	7	,200*	,931	7	,555
	FM	,149	7	,200*	,947	7	,706
	SDP	,208	7	,200*	,930	7	,550
	GB	,238	7	,200*	,878	7	,219

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

a. Corrección de significación de Lilliefors

El p valor (Sig) de las pruebas Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk tienen un valor mayor a 0,05, es decir, la distribución de la variable cuantitativa, peso en gramos (g), sigue una distribución normal.

Tabla 11. Resultados del análisis estadístico descriptivo

Tabla	N	Media Peso en gramos (g)	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
EHA	7	49,9429	7,32754	2,76955	43,1660	56,7197	38,80	59,50
FC	7	64,0000	4,10528	1,55165	60,2032	67,7968	58,00	68,00
FAE	7	104,6714	4,16202	1,57309	100,8222	108,5207	98,00	112,00
FM	7	93,8857	8,36270	3,16080	86,1515	101,6199	80,00	104,00
SDP	7	103,2286	7,22927	2,73241	96,5426	109,9145	94,00	116,00
GB	7	49,2714	6,33554	2,39461	43,4120	55,1308	39,00	55,10
Total	42	77,5000	24,86641	3,83697	69,7511	85,2489	38,80	116,00

Tabla 12. Resultado de la prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Peso en gramos (g)			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,074	5	36	,391

El p valor es mayor a 0,05. Por lo tanto, las varianzas son homogéneas.

Tabla 13. Resultado de prueba de ANOVA unidireccional

ANOVA					
Peso en gramos (g)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	23850,651	5	4770,130	114,389	,000
Dentro de grupos	1501,229	36	41,701		
Total	25351,880	41			

El p valor (Sig) es menor a 0,05. Por tanto, existe diferencias estadísticas entre grupos.

Tabla 14. Efecto cicatrizante del gel de extracto hidroalcohólico y fracciones de *Ficus citrifolia* Mill

Tratamientos	WAHt ± DS en gramos	% Efectividad
Gel de EHA 1%	49,94 ± 7,33	1,36
Gel de FC0,5 %	64,00 ± 4,11	29,89
Gel de FAE 0,5%	104,67 ± 4,16	112,44
Gel de FM 0,5%	93,89 ± 8,36	90,55
SDP 1% (control+)	103,23 ± 7,23	109,51
BG (control -)	49,27 ± 6,34	-

WAHt: fuerza media necesaria para abrir las heridas de un ratón tratado; DS: desviación estándar; BG: base de gel; EHA: extracto hidroalcohólico; FC: fracción cloroformo; FM: fracción metanol; SDP: sulfadiazina de plata.

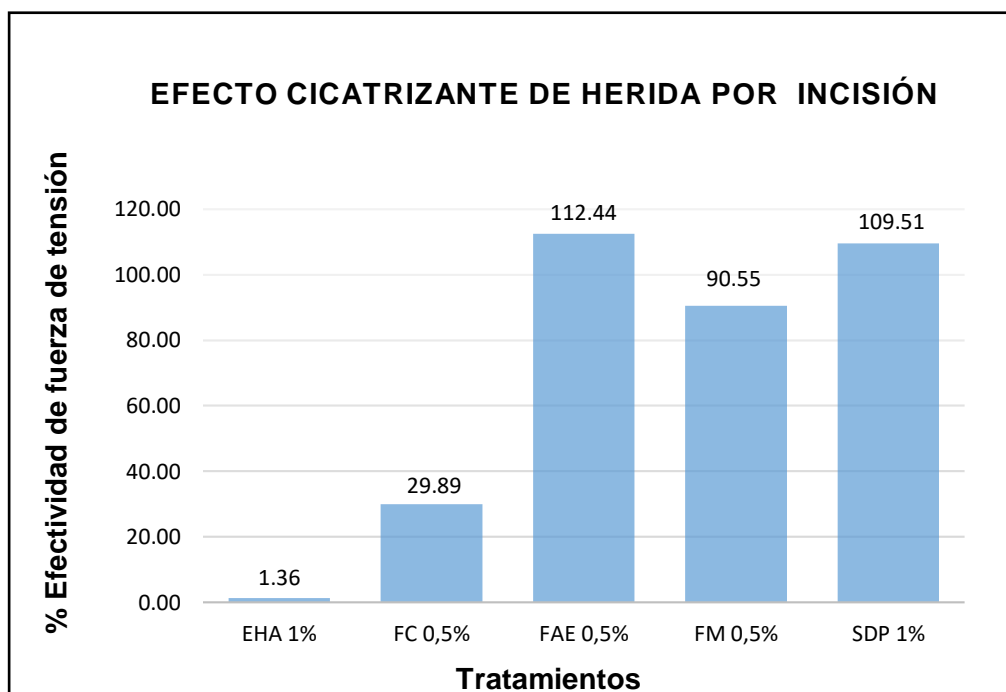


Figura 15. Porcentaje de la fuerza de tensión del efecto cicatrizante de herida por incisión del gel a base del extracto hidroalcohólico (EHA), fracción cloroformo (FC), fracción acetato de etilo (FAE), fracción metanol (FM) de corteza de *Ficus citrifolia* Mill y crema sulfadiazina de plata (SDP).

b) Resultados del estudio histopatológico

La técnica histológica, permitió evaluar el ambiente del tejido cicatrizal, verificando la presencia de macrófagos, fibroblastos, fibras de colágeno, la formación de edema, epidermis y otros aspectos histológicos (75).

La Tabla 15 y Figuras 16-21 muestran los resultados de los cortes histológicos de cada grupo experimental.

Tabla 15. Histopatología de los tratamientos y controles (positivo y negativo)

Tratamientos	Epidermis	Daño celular	Células inflamatorias	Fibroblastos	Fibras de colágeno	Cicatrización
EHA 1%	+	+	++	++	++	+
FC 0,5%	+	+++	++	++	++	+
FAE 0,5%	+++	+	++	++	++	+++
FM 0,5%	++	++	++	++	+++	++
SDP 1% (control +)	++	++	++	++	+++	++
BG (control -)	++	+	+++	+++	++	+

Escaso/leve (+), moderado (++), abundante/avanzado (+++)

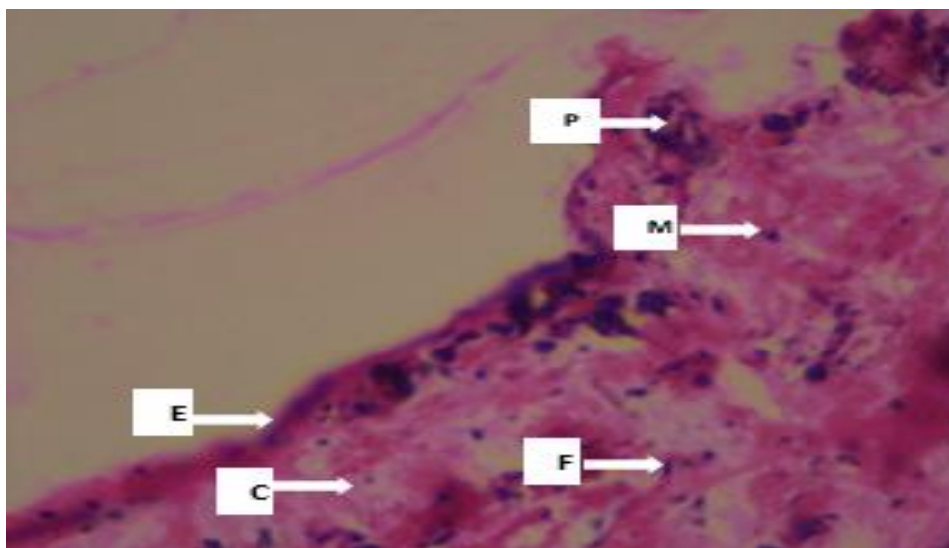


Figura 16. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con gel a 1% del extracto hidroalcohólico de *Ficus citrifolia* Mill. La figura muestra presencia de fibroblastos (F), fibras de colágeno (C) y macrófagos (M). además, se observa leve daño celular, folículos pilosos (P) conservados y epidermis (E) en regeneración.

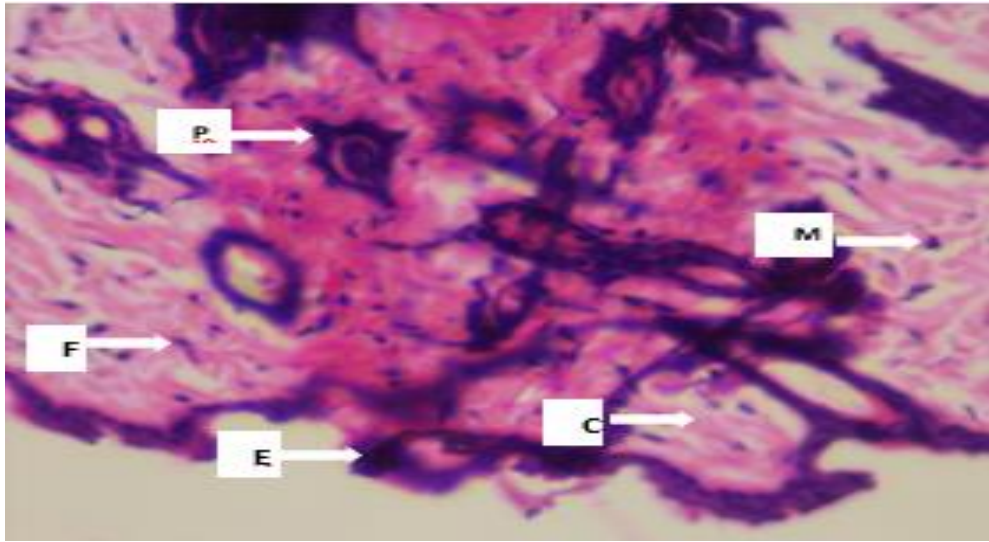


Figura 17. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con gel a 0,5% de fracción cloroformo de *Ficus citrifolia* Mill. La figura muestra presencia de fibroblastos (F), fibras de colágeno (C) y macrófagos (M). además, se observa severo daño celular, folículos pilosos (P) con quemaduras y epidermis (E) en regeneración.

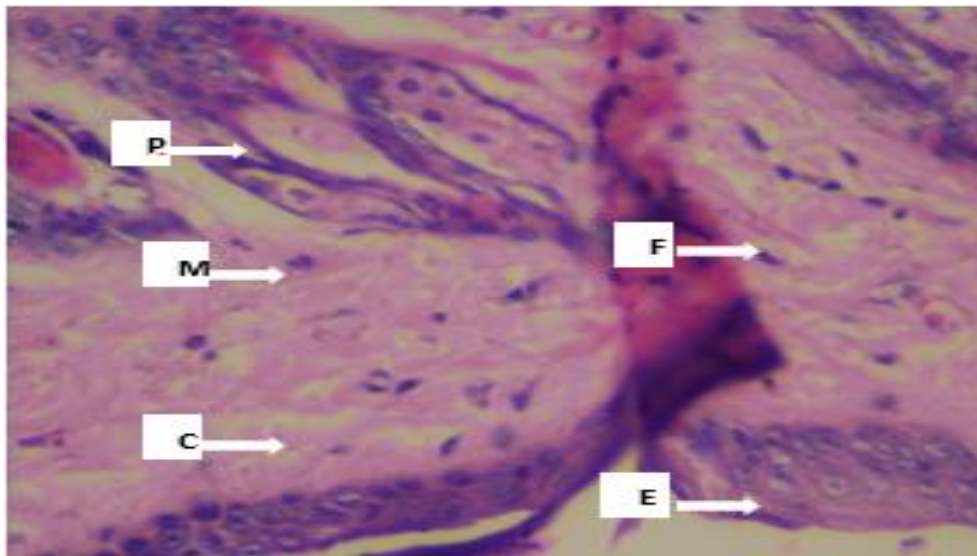


Figura 18. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con gel a 0,5% de fracción acetato de etilo de *Ficus citrifolia* Mill. La figura muestra presencia de fibroblastos (F), fibras de colágeno (C) y macrófagos (M). además, se observa leve daño celular, folículos pilosos (P) conservados, epidermis (E) con capa cornea íntegra y costra.

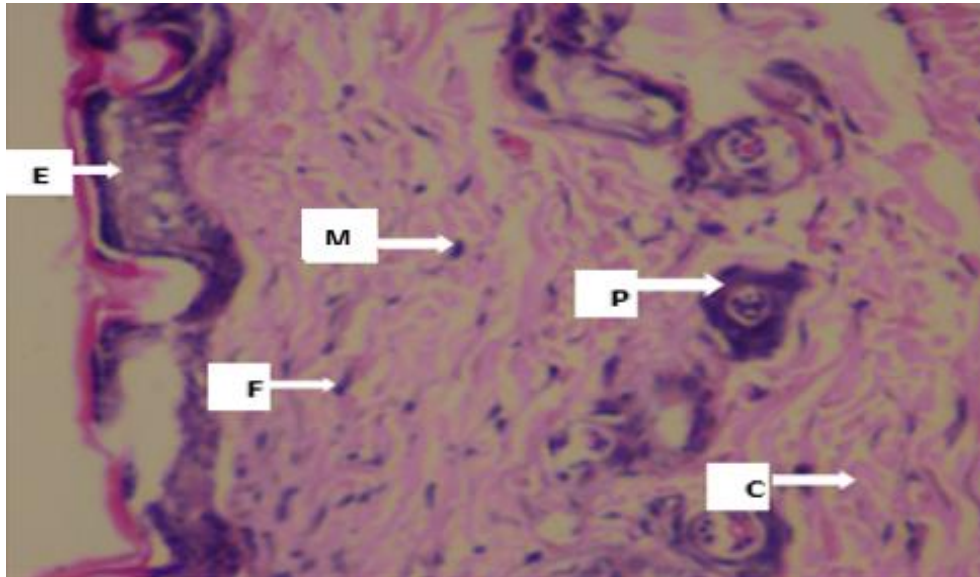


Figura 19. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con gel a 0,5% de fracción metanol de *Ficus citrifolia* Mill. La figura muestra presencia de fibroblastos (F), fibras de colágeno (C) y macrófagos (M). Además, se observa moderado daño celular, folículos pilosos (P) con quemaduras y epidermis en regeneración.

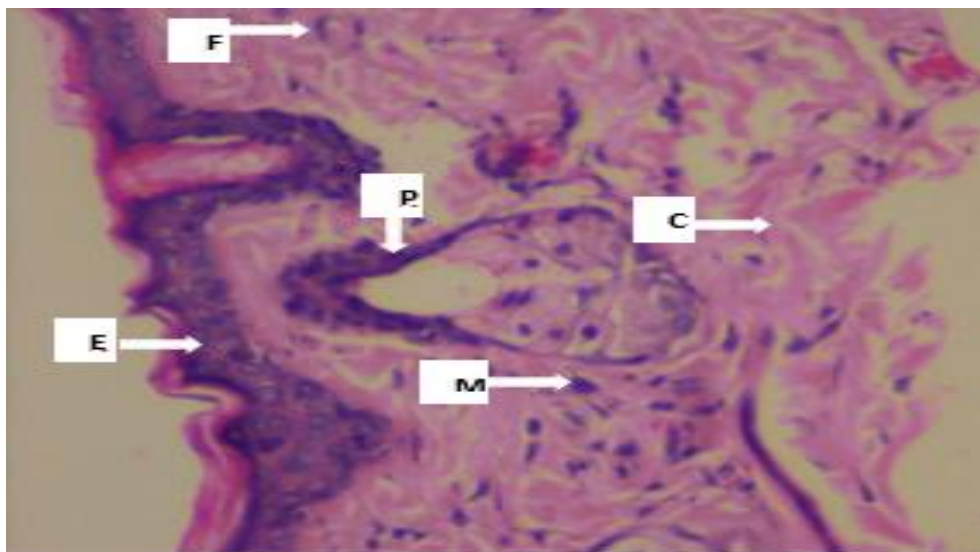


Figura 20. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con crema de sulfadiazina de plata a 1% (control positivo) La figura muestra presencia de fibroblastos (F), fibras de colágeno (C) y macrófagos (M). Además, se observa moderado daño celular, folículos pilosos (P) conservados y epidermis (E) con avanzada regeneración.

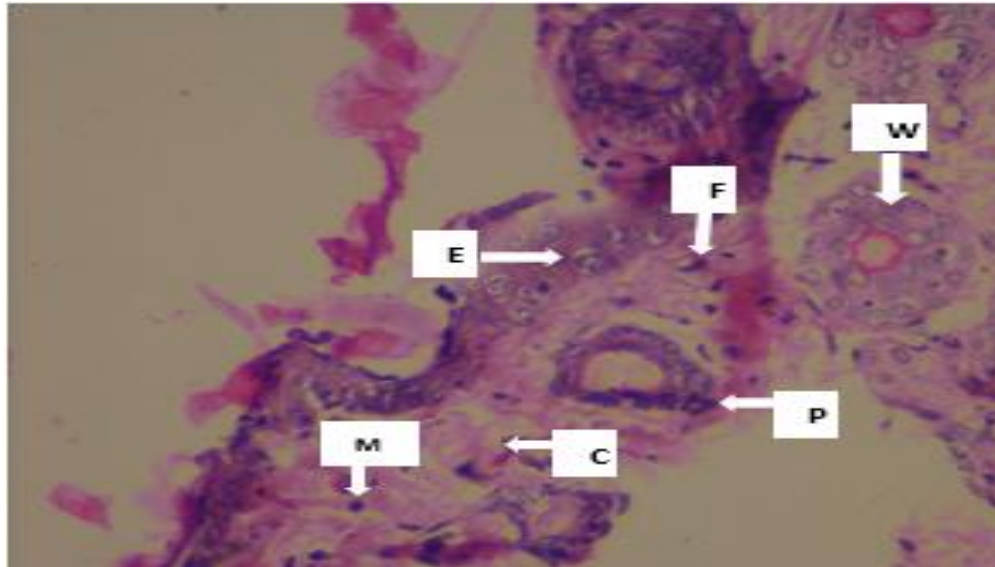


Figura 21. Características histopatológicas 400x de piel de ratón en 5to día de tratamiento con base de gel (control negativo). La figura muestra presencia de fibroblastos (F), fibras de colágeno (C) y macrófagos (M). Además, se observa edema (W), leve daño celular y epidermis (E) en regeneración.

4.2. Contrastación de Hipótesis

Con el objeto de realizar la prueba de hipótesis, se estableció una hipótesis nula y una hipótesis alterna:

Hipótesis general.

- **Hipótesis nula (H0):** El gel a base del extracto hidroalcohólico a 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill no posee efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos.
- **Hipótesis alterna (H1):** El gel a base del extracto hidroalcohólico a 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill posee efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos.

El resultado del análisis estadístico mediante prueba de ANOVA unidireccional descrito en Tabla 13, demostró las diferencias significativas entre grupos con respecto a nivel de significancia ($p < 0,05$) y el efecto cicatrizante fue expresado en porcentaje de

efectividad descrito en Figura 15. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1).

Hipótesis específicas

Hipótesis específica 1

Hipótesis nula (H0): Las clases de metabolitos secundarios presentes en el gel a base del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill no son los responsables del efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos.

Hipótesis nula (H1): Las clases de metabolitos secundarios presentes en el gel a base del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill son los responsables del efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos.

El tamizaje fitoquímico y análisis cromatográfico demostró presencia de clases de metabolitos secundarios, y el efecto cicatrizante lo demostró el ensayo farmacológico (modelo de insición y test histopatológico). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1).

Hipótesis específica 2

Hipótesis nula (H0): No existen diferencias de efectos cicatrizantes del gel a base del extracto hidroalcohólico a 1% respecto a las fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill en ratones albinos

Hipótesis nula (H1): Existen diferencias de efectos cicatrizantes del gel a base del extracto hidroalcohólico a 1% respecto a las fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill en ratones albinos

El análisis estadístico mediante prueba de ANOVA unidireccional descrito en Tabla 13 y Prueba estadística HSD Tukey para subconjuntos homogéneos (Ver anexo 12), demostraron las diferencias cicatrizantes significativas entre grupos con respecto a

nivel de significancia ($p < 0,05$). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis alterna (H_1).

Hipótesis específica 3

Hipótesis nula (H_0): El gel a base del extracto hidroalcohólico a 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill no posee buen efecto cicatrizante respecto a la crema sulfadiazina de plata 1% en ratones albinos

Hipótesis nula (H_1): El gel a base del extracto hidroalcohólico a 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill posee buen efecto cicatrizante respecto a la crema sulfadiazina de plata 1% en ratones albinos.

El efecto cicatrizante mostrado por gel a base del extracto hidroalcohólico a 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0.5% de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill fue estadísticamente significativo ($p < 0,05$) con respecto a la crema sulfadiazina de plata 1% (Ver Figura 15). Además, el test histopatológico confirma estos resultados (Ver Figuras 16-21). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis alterna (H_1).

4.3. Discusión de resultados

El tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. demostró la presencia de clases de metabolitos secundarios tales como: flavonoides, taninos y alcaloides; reportados también en la especie de *Ficus racemosa* investigado en la India por Murti et al. Además, ambas investigaciones coinciden en la ausencia de aminoácidos y carbohidratos (21).

En especies como *Ficus benghalensis*, investigado por Garg V y Paliwal S en la India(19) y *Ficus asperifolia*, investigado por Nwankwo IU y Ukaegbu KM en Nigeria (22), se encontró glucósidos, en cambio en *Ficus citrifolia* Mill no se evidenció la presencia de este tipo de compuesto.

La gran presencia de compuestos fenólicos presentes en *Ficus citrifolia* coincide con los hallazgos en *Ficus hispida*, reportado por Murti K et al (18). Asimismo, estos investigadores reportaron la presencia de carbohidratos y aminoácidos, lo cual difiere una vez más, de los resultados del presente estudio, ya que en *Ficus citrifolia* no se evidenció la presencia de estas clases de metabolitos.

Los hallazgos de clases de metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico y análisis cromatográfico del extracto hidroalcohólico y fracciones de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill apoyan lo afirmado por Liliana E y Salgado R: “triterpenos, alcaloides y flavonoides son las clases de metabolitos secundarios predominantes en el género *Ficus*” (81).

Al igual que en las hojas de *Ficus sycomorus*, investigado por Al-matani SK y colaboradores en Omán (24), en la corteza de *ficus citrifolia* Mill se encontró presencia de flavonoides (9). Asimismo, la presencia de quinonas y latonas α - β insaturadas en la corteza de *Ficus citrifolia* Mill coincide con los hallazgos en *Ficus benjamina* L, investigado por Bravo AV y Acuña WD (15), y *Ficus pertusa* reportado en reciente estudio por Carranza J y Herrera N (82).

Mediante cromatografía de capa fina de las fracciones de cloroformo, acetato de etilo y metanol de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill, se determinó presencia de triterpenos, alcaloides, taninos, flavonoides y quinonas, lo cual coincide en gran medida con especie *Ficus exasperata*, investigado por Umeh y colaboradores en Nigeria, en donde evaluaron el extracto acuoso y fracciones n-hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol, encontrando alcaloides, saponinas, esteroides, terpenoides, glicósidos, taninos y flavonoides (23).

Los resultados del modelo de insición mostraron un incremento del porcentaje de resistencia a la tracción de los tratamientos evaluados respecto a grupos control positivo (sulfadiazina de plata) y negativo (base de gel) (Ver Figura 15). Este aumento puede deberse a la gran presencia de colágeno y la estabilización de las fibras (19); ya que los grupos con mejor porcentaje de efectividad muestran a su vez mayor presencia de este tipo de proteína y otras características favorables a cicatrización según estudio histopatológico (Ver Figuras 16-21).

Al compararse los efectos cicatrizantes del gel a base de las fracciones a 0.5% respecto a gel a base del extracto hidroalcohólico 1% de corteza de *Ficus citrifolia* Mill, se obtuvo mayor efecto cicatrizante con las fracciones, siendo la fracción acetato de etilo superior a todos los grupos (112.44%) (Ver Figura 15). Asimismo, el análisis estadístico mediante prueba ANOVA Unidireccional demostró diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p < 0,05$), obteniéndose así subconjuntos homogéneos mediante la prueba de HSD Tukey (Ver Anexos 12 y 13). Estos resultados difieren a los hallazgos reportados por Umeh et al., en el cual la pomada al 5% (p/p) del extracto acuoso de hoja de *F. exasperata* resultó poseer mayor efecto cicatrizante que cualquiera de sus fracciones al 10% (p/p) y 20% (p/p) respectivamente.(23)

El porcentaje de efectividad del gel a concentración 0,5% (p/p) a base de las fracciones polares, acetato de etilo (112,44%), y metanol (90,55%) fueron mayores a los resultados obtenidos por Prado I. (2015), en estudio titulado: “Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana* (cabuya). Ayacucho 2013”, utilizando el modelo de insición con método tensiométrico, el investigador obtuvo el mayor porcentaje de efecto cicatrizante del gel de los compuestos fenólicos a concentración de 0,5%, alcanzando un 67,1 % de efectividad (14). Además, ambas investigaciones coinciden que el mejor efecto cicatrizante de las fracciones polares fue a concentración 0,5%.

El gel a base de extracto hidroalcohólico a 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) a 0.5% de corteza de *Ficus citrifolia* Mill mostraron buen efecto cicatrizante con respecto a crema sulfadiazina de plata 1%, siendo las fracciones polares las de mejor porcentaje de efectividad, incluso la fracción acetato de etilo (112,44%) fue mayor al efecto cicatrizante mostrado por el control positivo (109.51%) (Ver Figura 15). Estos resultados coinciden con lo investigado por Garg VK y Paliwal SK. (19), donde evaluaron el efecto cicatrizante de heridas de los extractos etanólicos y acuosos de *F. benghalensis* en modelos de escisión e incisión y determinaron que los compuestos polares presentes en los extractos de la especie vegetal fueron los que más influyeron en el efecto cicatrizante de heridas.

El estudio histopatológico del gel a base de la fracción cloroformo 0.5% a diferencia de los otros grupos, reveló severo daño celular y otras características poco favorables a reparación de tejido lesionado. Por lo tanto, se sugiere no usar en dosis altas principalmente en enfermedades crónicas, lo cual coincide con Umeh et al (2014) (23), donde investigó el efecto cicatrizante de extracto acuoso y fracciones n-hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol de la especie *Ficus exasperata* y determinó que las fracciones fracciones en bajas concentraciones resultó ser más seguro respecto al extracto acuoso según las pruebas de toxicidad subcrónica y los hallazgos histopatológicos.

Los flavonoides podrían contribuir de manera significativa a la cicatrización, ya que se ha demostrado que los flavonoides y sus derivados disminuyen la peroxidación lipídica mejorando la vascularización, lo que conduce a una disminución de la necrosis celular(23),(25). Asimismo, se sabe que los triterpenos y/o esteroides mejoran el proceso de cicatrización de las heridas principalmente debido a sus actividades astringentes y antimicrobianas que parecen ser responsables de la contracción de la herida y el aumento de la tasa de epitelización (23).

Los taninos y alcaloides podrían contribuir en el proceso de cicatrización, ya que en investigaciones previas realizadas en *Ficus hispida* investigado por Murti K et al (18). y *Ficus racemosa* estudiado por Murti et al (21), estas clases de compuestos estuvieron presentes según el estudio fitoquímico y contribuyeron de forma significativa en el efecto cicatrizante de heridas.

De lo expuesto, se puede deducir que el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico y fracciones de la corteza de *F. citrifolia* Mill, podría ser por acción individual o sinérgica de las diversas clases de metabolitos secundarios. Sin embargo, debido al mayor efecto cicatrizante mostrado por las fracciones polares (acetato de etilo y metanol), se puede afirmar que los compuestos como triterpenos, compuestos fenólicos y alcaloides podrían ser los responsables del efecto cicatrizante.

CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill contiene triterpenos, compuestos fenólicos y alcaloides como los posibles responsables del efecto cicatrizante.
2. El gel a base de las fracciones al 0.5 % (cloroformo, acetato de etilo y metanol) tienen mayor efecto cicatrizante que el gel a base del extracto hidroalcohólico al 1 % y el efecto cicatrizante podría ser por la presencia de triterpenos, compuestos fenólicos y alcaloides.
3. El gel a base de la fracción de acetato de etilo al 0.5 % es el de mayor porcentaje de efectividad respecto a la sulfadiazina de plata al 1 %.

5.2. Recomendaciones

1. Realizar ensayos de toxicidad aguda y crónica del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill con la finalidad de garantizar la seguridad de los tratamientos.
2. Realizar ensayos con otros modelos experimentales con la finalidad de reforzar los resultados del efecto cicatrizante del presente trabajo de investigación.
3. Realizar estudios complementarios con las diferentes partes (hojas, frutos, raíz) del *Ficus citrifolia* Mill con la finalidad de evaluar su efecto cicatrizante.
4. Continuar con la investigación fitoquímica con la finalidad de aislar las moléculas y determinar si son responsables del efecto cicatrizante por acción individual o sinérgica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morón FJ, Jardines JB. La medicina tradicional en las universidades médicas. *Rev Cuba Plantas Med.* 1997;2(1):35–41.
2. Ceballo E V, Falcones M. Enfermedades prevalentes en los recicladores del botadero de basura el jardín de la ciudad de Esmeraldas durante el periodo septiembre 2015 a enero del 2016. [Internet]. 2016. Available from: <http://hdl.handle.net/123456789/654>
3. Hossain MA. A review on *Ficus sycomorus*: A potential indigenous medicinal plant in Oman. *J King Saud Univ - Sci* [Internet]. 2018;xxx:0–4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.07.002>
4. OPS/OMS. Informe sobre la situación de la seguridad vial en la región de las américas. Washington, D.C.; 2015.
5. Velnar T, Bailey T, Smarkolj V. The Wound Healing Process : an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *J Int Med Res.* 2009;37(5):1528–42.
6. Webster J, Stankiewicz M, Scuffham P, Chaboyer WP, Sherriff KL. Negative pressure wound therapy for skin grafts and surgical wounds healing by primary intention. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2011;(8):15. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD009261>
7. Reyes AJ, Ramírez P, Stagnaro MA. Estudio descriptivo sobre heridas incisas por accidente laboral. *Enfermería Glob* [Internet]. 2011;22:1–11. Available from: *AJ Reyes Recio, P Ramírez González... - Enfermería ..., 2011 - SciELO España*
8. Pérez G, Bueno S. Seguridad vial y salud pública: Costos de atención y rehabilitación de heridos en Chile , Colombia y Perú. 311th ed. San tiago - Chile; 2012. 11 p.
9. Aldana CD, Guayasamín LE, Noriega P. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de *Ficus citrifolia* y

- caracterización química de los polifenoles [Internet]. Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador.; 2014. Available from: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/6011>
10. Andreu MG, Friedman MH, Mckenzie M, Quintana H V, Robert J. *Ficus citrifolia*. 2016;1–2.
 11. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Tercera ed. Lima: K&G Soluciones graficas; 2016. 1-287 p.
 12. Márquez G, Fuentes C. Capacidad antioxidante y caracterización estructural de las antocianinas de los frutos rojos de *Prunus domestica* L., *Ficus carica* L. y *Vitis vinifera* L. c.v. (red globe) cultivados en Perú [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2011. Available from: <http://200.62.146.130/handle/cybertesis/2594>
 13. Arévalo JM, Ubillus SK, Delgado H V. Actividad anticoagulante in-vitro del látex de *Ficus insípida* (willd.) “ojé” sobre la cascada de la coagulación sanguínea - c.s. San Juan 2012 [Internet]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2013. Available from: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/4761>
 14. Prado I. Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana* “cabuya”. Ayacucho 2013. [Internet]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015. Available from: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/1156>
 15. Bravo A V, Acuña WD. Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L. Xilema [Internet]. 2015;28:61–7. Available from: <http://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/xiu/article/viewFile/599/582>
 16. Abarca E, Chávez J. Actividad antiulcerosa del extracto etanólico de las hojas de *Ficus carica* L. (higo) en ratas [Internet]. Universidad Norbert Wiener; 2018. Available from: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/2201>
 17. Valdez LK, Palacios EW. Prácticas etnobotánicas odontológicas de la

comunidad Kichwa Playas de Oro, Parroquia Santa Cecilia, Cantón Lago Agrio, Provincia de Sucumbíos [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2017. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9598>

18. Murti K, Singh R, Paliwal D, Taya P. Effect of *Ficus hispida* L. on normal and dexamethasone suppressed wound healing. 2011;697:684–97. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-82502011000400023&lng=en&tIng=en
19. Garg VK, Paliwal SK. Wound-healing activity of ethanolic and aqueous extracts of *Ficus benghalensis*. J Adv Pharm Technol Res [Internet]. 2011;2(2):110. Available from: <http://www.japtr.org/text.asp?2011/2/2/110/82957>
20. Bauer G, Speck T. Restoration of tensile strength in bark samples of *Ficus benjamina* due to coagulation of latex during fast self-healing of fissures Georg. 2012;109(4 OP-Annals of Botany. Mar2012, Vol. 109 Issue 4, p807-811. 5p.):807. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&site=eds-live&db=fsr&AN=72441755>
21. Murti K, Kumar U. Enhancement of wound healing with roots of *Ficus racemosa* L. in albino rats. 2012;2(4 OP-In Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine April 2012 2(4):276-280):276. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&site=eds-live&db=edselp&AN=S2221169112600227>
22. Nwankwo IU, Ukaegbu KM. Preliminary phytochemical screening and antibacterial activity of two Nigerian medicinal plants (*Ficus asperifolia* and *Terminalis catappa*). J Med plant Herb Ther Res. 2014;2:1–5.
23. Umeh V, Ilodigwe E, Ajaghaku D, Erhirhie E, Moke G, Akah P. Wound-healing Activity of the Aqueous Leaf Extract and Fractions of *Ficus exasperata* (Moraceae) and its Safety Evaluation on Albino Rats. J Tradit Complement Med [Internet]. 2014;4(4 OP-In Journal of Traditional and Complementary Medicine

October-December 2014 4(4):246-252):246. Available from:
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&site=eds-live&db=edselp&AN=S2225411016302395>

24. Al-matani SK, Al-wahaibi RNS, Hossain MA. Total flavonoids content and antimicrobial activity of crude extract from leaves of *Ficus sycomorus* native to Sultanate of Oman. *Karbala Int J Mod Sci* [Internet]. 2015;1(3):166–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.kijoms.2015.11.007>
25. Rosnah J, Khandaker MM, Boyce AN. *Ficus deltoidea*: Review on Background and Recent Pharmacological Potential. *J Agron* [Internet]. 2015;14(4):310–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.3923/ja.2015.310.318>
26. Expósito E, Díaz A, Contreras J, Cabaloso T, Cabaloso D. Estudio cualitativo de sustancias químicas presentes en la planta *Ficus carica* L. *Rev Electron Dr Zoilo Mar Vidaurreta*. 2017;42(3).
27. Ibarra G, Cornejo G, González N, Piedra EM, Luna A. El género *Ficus* L. (Moraceae) en México. *Bot Sci*. 2012;90(4):389–452.
28. García KT, Noriega PF. Caracterización química de los flavonoides presentes en *Ficus citrifolia* Mill [Internet]. Universidad politécnica salesiana; 2015. Available from: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/9373>
29. De Mendoza LR, Romaniuc S. *Ficus* (Moraceae) no Estado de São Paulo. 2006.
30. Flores Y. Riqueza arbórea de la Región Ucayali Problemática, estado del conocimiento y recomendaciones. Pucallpa: Instituto Nacional de Investigación Agraria; 2013. p. 43.
31. López N, del Cisne L. Selección de semillas y capacidad de germinación de *Ficus citrifolia* Mill. *Rev For Mesoam Kurú(Costa Rica)*. 2014;11(27):65–9.
32. Francis JK, Lowe CA. Bioecología de árboles nativos y exóticos de Puerto Rico y las Indias occidentales. General technical report IITF-15: Bioecología de

arboles nativos y exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales. Río Piedras, Puerto Rico; 2000.

33. El-Sayed M, Mahmoud M, El-Nahas H, El-Toumy S, El-Wakil E, Ahmed M. Bio-Guided Isolation and Structure Elucidation of Antioxidant Compounds From the Leaves of *Ficus Sycomorus*. *Pharmacologyonline*. 2010;3(3):317–32.
34. Akkol EK, Süntar I, Keleş H, Sezik E, Gürler G. Aislamiento guiado por bioensayos y caracterización de compuestos curadores de heridas de *Morus nigra* L. (moráceas). *Rec Nat Prod [Internet]*. 2015;9(4):484–95. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84930652153&partnerID=tZOtx3y1>
35. Sarg TM, Abbas FA, El-sayed ZI, Mustafa AM. Two new polyphenolic compounds from *Ficus retusa* L. " variegata " and the biological activity of the different plant extracts. *J Pharmacogn Phyther*. 2011;3(7):89–100.
36. Novelli S, Lorena C, Antonella C. Identification of Alkaloid's Profile in *Ficus benjamina* L. Extracts with Higher Antioxidant Power. *Am J Plant Sci*. 2015;05(26):4029–39.
37. Yessoufou K, Elansary HO, Mahmoud EA, Skalicka-Woźniak K. Antifungal, antibacterial and anticancer activities of *Ficus drupacea* L. stem bark extract and biologically active isolated compounds. *Ind Crops Prod*. 2015;74:752–8.
38. Bopage N, Bandara K, Jayawardena KH, Chandrani S, Mahendra A, Somaratne S. Dual function of active constituents from bark of *Ficus racemosa* L in wound healing. *BMC Complement Altern Med*. 2018;18(1):1–13.
39. Sultana S, Ali M, Mir SR. Chemical Constituents from the Stem barks of *Ficus racemosa* L . and *Ficus religiosa* L . *Chem Res J*. 2018;3(4):143–56.
40. Wells C. *Skin and Wound Care Manual [Internet]*. 2008. 1-135 p. Available from: westernhealth.nl.ca/.../PDFs/wound%2520care%2520manual%2520for%25...%0A

41. Guarín C, Quiroga P, Landínez NS. Proceso de Cicatrización de heridas de piel , campos endógenos y su relación con las heridas crónicas. Rev Fac Med. 2013;61(4):441–8.
42. Audesirk T, Audesirk G, Byers BE. BIOLOGÍA. La vida en la tierra. Octava Edi. México: Prentice Hall; 2008. 928 p.
43. Hidalgo O, Ordaz C, San Martín E, Pérez G. Determinación del efecto cicatrizante del extracto acuotánico de la planta *Bacopa Procumbens* en la línea celular 3T3 de fibroblastos de ratón. Instituto Politécnico Nacional; 2010.
44. Velandia DA, Rincón J. Evaluación de la actividad cicatrizante y caracterización fitoquímica de *Dracontium croatii*. [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2009. Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/8469/1/192529.2009.pdf>
45. Andrades P, Sepúlveda S. Cicatrización Normal. Cirugía Plástica Esencial p. 19–30.
46. Monaco JA, Lawrence T. Acute wound healing: An overview. Plast Reconstr Surg [Internet]. 2006;117(7):1–12. Available from: www.drjeffreyjanis.com/.../Wound_Healing__An_Overview.29.p...%0A
47. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. Eur Surg Res [Internet]. 2012;49(1):35–43. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/journal/1524475x>
48. Khalil H, Cullen M, Chambers H, Carroll M, Walker J. Elements affecting wound healing time : An evidence based analysis Elements affecting wound healing time : An evidence based analysis. Wound Repair Regen. 2015;5(July 2017):8.
49. Spear M. Principles of wound care-back to the basics. Plast Surg Nurs. 2014;34(3):150–2.
50. García J V, Pastor A. Estudio de liberación de sulfadiazina de plata desde matrices de quitosanos para su uso como apósitos en quemaduras [Internet].

Pontificia Universidad Católica del Perú; 2013. Available from: <http://tesis.pucp.edu.pe:8080/repositorio/handle/123456789/1736>

51. Saldaña L, Saens S. Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología Peru*. 2005;15(2):82–103.
52. Vincy LAIW, Zhang H. Comparison of Moist Exposed Burn Ointment (MEBO) with Silver Sulfadiazine (Ag-S) for the Treatment of Deep Burn Injury [Internet]. *Medicine*. 2004. Available from: libproject.hkbu.edu.hk/trsimage/hp/99000628.pdf%0A
53. Dissemond J, Eming SA, Goerge T, Horn T, Karrer S, Schu- H. Modern wound care – practical aspects of non-interventional topical treatment of patients with chronic wounds. *Ger Soc Dermatolgy*. 2014;12(7):541–54.
54. Lazo F, Huamán E, Paz B. Evaluación del efecto cicatrizante de los extractos (fluido y glicólico) y la crema de *Aloysia spathulata* (chiquilla) en heridas incisas inducidas en animales de experimentación. Arequipa-2012 [Internet]. Vol. 1. Universidad Católica de Santa María; 2013. Available from: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3847>
55. Kuklinski C. *Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. 1st ed. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.; 2000. 505 p.
56. Compendium HM. Guideline for Assigning Titles to USP Herbal Medicines Compendium Monographs. *USP Herb Med C* [Internet]. 2014;1:1–5. Available from: <https://hmc.usp.org/.../HMC Nomenclature Guidelines> .
57. Ruíz SG, Venegas EA, Chávez MH, Eustaquio CL. Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de *Morinda citrifolia* L . “ noni ” y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales. *UCV-Scientia*. 2010;2(2):11–22.
58. Berto CC, Silva CA. “Extracción líquido líquido de soluciones de cobre usando

LIX-984.” Universidad Nacional de Ingeniería; 1995.

59. Striegel M, Hill J. Thin-Layer Chromatography for Binding Media Analysis [Internet]. United States of America; 1996. 188 p. Available from: https://www.getty.edu/conservation/publications_resources/pdf.../thin_layer.pdf
60. M .W Beyerinck. Thin layer chromatography. In: Basic principles of TLC [Internet]. 1988. p. 257–304. Available from: https://www.winlab.com.au/Chromatography/MN_TLC.pdf
61. Cornejo C, Pinto A, Vela F. “Efecto cicatrizante de un gel topico a base de cketo cketo (*Gamochaeta americana*) en animales de experimentación. Arequipa - 2011 [Internet]. Universidad Católica de Santa María; 2011. Available from: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3870>
62. Vaisberg A, Milla M, Planas C, Cordova J, Agusti E, Ferreyra R, et al. Taspine is the cicatriz ant principle in Sangre de Grado extracted from *Croton lechleri*. *Planta Med.* 1989;55:140–3.
63. Montalvo CE. Técnica Histológica. 2010;1–12. Available from: http://histologiaunam.mx/descargas/ensenanza/portal_recursos_linea/apuntes/3_tecnica_histologica.pdf
64. Dalgleish T, Williams JMG., Golden A-MJ, Perkins N, Barrett LF, Barnard PJ, et al. Definiciones y conceptos fundamentales para el mejoramiento de la calidad de la atención a la salud. Vol. 136, *Journal of Experimental Psychology: General.* 2007. 23-42 p.
65. ValenciaUniversitat. Incisiones y suturas [Internet]. OpenCourseWare. Available from: ocw.uv.es/ciencias-de-la-salud/cirugia-bucal/pract03.pdf%0A
66. Buitrago J. Biología de las heridas y proceso cicatrización. 2011;1–21. Available from: <http://blog.utp.edu.co/cirugia/files/2011/07/biologiadelasheridasyelprocesodecicatrizaciondocumento.pdf>

67. Ministerio de Salud. Decreto Supremo N° 014-2011-SA: aprueban reglamento de establecimientos farmacéuticos [Internet]. DIGEMID. 2011. p. 67. Available from: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/Main.asp?Seccion=475>
68. DIGEMID. Catálogo Estándar de Productos Farmacéuticos. Diccionario de Formas Farmacéuticas Detalladas [Internet]. DIGEMID. 2016. p. 30. Available from: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/Main.asp?Seccion=652>
69. Cañigueral S, Dellacassa E, Bandoni AL. Plantas medicinales y fitoterapia: ¿Indicadores de dependencia o factores de desarrollo? Acta Farm Bonaer [Internet]. 2003;22(3):265–77. Available from: <http://hdl.handle.net/10915/6599>
70. Nombela C, Lopez F, Serrano JM, Postigo E, Abellan JC, Prensa L. La eutanasia: perspectiva ética, jurídica y médica. Lib y Testamento Vital [Internet]. 2008;1(1):27. Available from: http://www.defensamuertenatural.org/wp-content/documentos/La_Eutanasia_perspectiva_etica_juridica_y_medica.pdf
71. Hall J, Buckley HL, Lamb KA, Stubbs N, Saramago P, Dumville JC, et al. Point prevalence of complex wounds in a defined United Kingdom population [Internet]. Department of Health Sciences. UK; 2014. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25224463>
72. Izquierdo E, Pablos J. Los fibroblastos sinoviales en la patogenia de la angiogénesis reumatoide [Internet]. Universidad Complutense de Madrid; 2011. Available from: <https://eprints.ucm.es/13278/>
73. Lipsky BA, Hoey C. Topical Antimicrobial Therapy for Treating Chronic Wounds [Internet]. Vol. 49. 2009. p. 1541–9. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/49/10/1541/297363> by guest on 25
74. Hyman B. El diseño de la investigación [Internet]. American Society of Mechanical Engineers (Paper). 1985. p. 14. Available from: www.unizar.es/abarrasa/tea/200910_25906/a7.pdf
75. Salazar L, Vega L, Rengifo R. “Efecto del extracto hidroalcoholico de las hojas

de *Piper aduncum*, sobre lisiones de piel inducidas en *Oryctolagus cuniculus*" [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2014. Available from: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1604>

76. Alliacca NP, Abdo S. "Comparación del efecto cicatrizante de tinturas elaboradas a base de guarango (*Caesalpinia spinosa*) y sangre de drago (*Croton lechleri*) aplicados en ratones (*Mus musculus*)" [Internet]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4009>
77. Marcelo Bazán JF. "Análisis de hidrocarburos totales de petróleo (Cto-C4o) y de hidrocarburos aromáticos policíclicos (fenantreno, pireno y benzo(a) antraceno) para muestras de aguas y suelos mediante cromatografía de gases" [Internet]. Universidad Nacional de Ingeniería; 2013. Available from: cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/3746/1/marcelo_bj.pdf%0A
78. Gallardo Vásquez GJ, Barbosa Mejía L. Efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* "Sangre de Drago." Rev Científica Cienc Médica. 2015;18(1):10–6.
79. Baltodano, Lady, Yaipen JE, Fuertes C. Obtención, caracterización y diseño de una forma farmacéutica (ungüento) a base de quitosano con efecto cicatrizante. [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2006. Available from: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/1624>
80. Soler SF, Soler L. Usos del coeficiente alfa de Cronbach en el análisis de instrumentos escritos. Rev Médica Electrónica [Internet]. 2012;34(1):01–6. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1684-18242012000100001&script=sci_arttext&tlng=pt
81. Rengifo E. Contribución de la etnomedicina - plantas medicinales , a la salud de la población en la amazonía . [Internet]. Instituto de Investigaciones para la Amazonía peruana - IIAP. Available from: www.acadnacmedicina.org.pe/publicaciones/.../contribucion_etnomedicina.pdf

%0A

82. Carranza J, Herrera N. Evaluación del efecto antiinflamatorio del gel con extracto etanolico de la corteza del *Ficus pertusa* en ratas albinas [Internet]. Inca Garcilaso de la Vega; 2018. Available from: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2631>

ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia

“EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO Y FRACCIONES (CLOROFORMO, CETATO DE ETILO Y METANOL) DE CORTEZA DE *Ficus citrifolia* Mill EN RATONES ALBINOS”

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES			METODOLOGÍA
			V1: INDEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADOR	
¿ El gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill poseerá efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos?	Evaluar si el gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill posee efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos	El gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill posee efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos	Gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	Fitoquímico	Tamizaje fitoquímico de extracto hidroalcohólico Cromatografía de capa fina de las fracciones	A. I. TIPO DE INVESTIGACIÓN: Experimental: el investigador manipula aleatoriamente las condiciones de la investigación. II. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN: Experimento puro debido a que se manipula la variable independiente y se mide su efecto sobre la variable dependiente.
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	V2: DEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADOR	III. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN. A. POBLACIÓN: 1. Vegetal: plantas de <i>Ficus citrifolia</i> Mill (6 por 25 metros cuadrados). 2. Animal: 350 ratones albinos de la especie <i>Mus musculus</i> (lote M-28-2018) B. MUESTRA: 1. Vegetal: corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill (4,2kg de muestra fresca). 2. Animal: ratones albinos de la especie <i>Mus musculus</i> (42 unidades), distribuidos en 6 grupos de 7 miembros por cada grupo. IV. TÉCNICA DE PROCESAMIENTO DE RESULTADOS: Tablas y gráficos analizados por el programa estadístico IBM SPSS versión 22.
1. ¿ Las clases de metabolitos secundarios presentes en el gel a base del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill serán los responsables efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos?	1. Identificar las clases de metabolitos secundarios presentes en el gel a base del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill responsables del efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos	1. Las clases de metabolitos secundarios presentes en el gel a base del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill son los responsables del efecto cicatrizante de heridas en ratones albinos.	Efecto cicatrizante	Farmacológico	Test tensiométrico	
2. ¿ Existirán diferencias de efectos cicatrizantes del gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% respecto a las fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill en ratones albinos?	2. Evaluar si existen diferencias de efectos cicatrizantes del gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% respecto a las fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill en ratones albinos.	2. Existen diferencias de efectos cicatrizantes del gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% respecto a las fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill en ratones albinos			Estudio histopatológico	
3. ¿El gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill poseerá buen efecto cicatrizante respecto a la crema sulfadiazina de plata 1% en ratones albinos?	3. Determinar si el gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill posee buen efecto cicatrizante respecto a la crema sulfadiazina de plata 1% en ratones albinos	3. El gel a base del extracto hidroalcohólico al 1% y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) al 0.5% de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill posee buen efecto cicatrizante respecto a la crema sulfadiazina de plata 1% en ratones albinos				

Anexo 2: Operacionalización de variables e indicadores

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES				
V1. INDEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ITEMS	INSTRUMENTO
Extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de la corteza del Ficus citrifolia Mill.	Fitoquímico	Identificación de grupos de metabolitos secundarios por Tamizaje fitoquímico de extracto hidroalcohólico	Coloración y/o precipitación de las reacciones para cada grupo de metabolitos secundarios	Ficha de observación Ad Hoc.
		Identificación de metabolitos secundarios por cromatografía de capa fina de fracciones (FC, FAE, FM)	Valor del Rf de las manchas de los cromatofolios	
V1. DEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ITEMS	INSTRUMENTO
Efecto cicatrizante de heridas incisas en ratones albinos	Farmacológico	Fuerza de tensión expresado en gramos para abrir la herida	Peso en gramos de arena necesario para abrir la herida	Ficha de observación Ad Hoc.
		Observación microscópica del ambiente del tejido cicatrizal	Presencia de macrófagos, fibroblastos, fibras de colágeno, edema y epidermis	Ficha de observación Ad Hoc.

Fuente: Elaboración propia

Anexo 3: Certificado de identificación botánica de *Ficus citrifolia* Mill.

José Ricardo Campos de la Cruz
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Tel: 4692651. RPM 963689079
E-mail: jocamde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 – INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0313-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

Certifica:

Que, la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, con RUC: N° 20108383471, con dirección en AV. Arequipa N° 1841 – Lince – Lima – Lima. Con fines de investigación ha solicitado la determinación y certificación botánica de la planta conocida con el nombre vulgar de "estrangulador". La muestra fértil con flores y frutos, procedente del departamento de Loreto, Provincia de Mariscal Ramón Castilla. Distrito de Pebas, se ha determinado como *Ficus citrifolia* MILL Y según el Sistema de Clasificación Botánica de Arthur Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

REINO : Plantae
DIVISIÓN : Magnoliophyta
CLASE : Magnoliopsida
SUBCLASE : Hammelididae
ORDEN : Urticales
FAMILIA : Moraceae
GENERO : *Ficus*
ESPECIE : *Ficus citrifolia* Mill

Se expide la presente certificación para los fines que estime conveniente.

Lima, 11 de noviembre del 2015


José R. Campos De La Cruz
BIÓLOGO
C.B.P. 3796

Jr. Sánchez Silva # 156 – Urb. Santa Luzmila – Lima 07 / e-mail: jocamde@gmail.com

Anexo 4. Ficha de recolección de datos



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

Ficha de recolección de datos para la evaluación del efecto cicatrizante

I. Análisis Fitoquímico

Nombre de la especie vegetal.....

Droga vegetalPeso

Método de extracciónPeso del extrato seco.....

Método de fraccionamientoPeso de las fracciones.....

1.1. Determinación de grupos de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico

GRUPOS DE METABOLITOS SECUNADRIOS	REACCIÓN DE COLORACION Y/O PRECIPITACIÓN	COLOR Y/O PRECIPITACIÓN DE LA REACCIÓN

1.2. Determinación de grupos de metabolitos secundarios por cromatografía de capa fina (CCF)

GRUPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS	FASE MOVIL	REVELADOR	RESULTADO	
			NÚMERO DE MANCHAS	VALOR DE R _f

II. Evaluación del efecto cicatrizante

2.1. Método Tensiométrico

Muestra animal.....
 Sexo..... Peso.....
 Modelo de estudio.....
 Agente anestésico..... Dosis.....
 Agente eutanásico..... Dosis.....
 Método de inducción.....
 Zona anatómica de incisión y tratamiento.....
 Fecha de inicio..... Fecha de término.....

GRUPO EXPERIMENTAL	NÚMERO DE RATONES	PROMEDIO DE FUERZA DE TENSIÓN EXPRESADO EN GRAMOS
G1: Gel de EHA 1 % (p/p)		
GII: Gel de FC 0,5 % (p/p)		
GIII: Gel de FAE 0,5 % (p/p)		
GIV: Gel de FM 0,5 % (p/p)		
GV: Crema sulfadiazina de plata 1% (p/p) (Control +)		
GVI: Base de gel (Control -)		

EHA: extracto hidroalcohólico; FC: fracción cloroformo; FAE: fracción acetato de etilo; FM: fracción metanol

2.2. Estudio histopatológico

GRUPO EXPERIMENTAL	NÚMERO DE MUESTRAS ANALIZADAS	PRESENCIA DE MACRÓFAGOS, FIBROBLASTOS, FIBRAS DE COLÁGENO, EDEMA Y EPIDERMIS
G1: Gel de EHA 1 % (p/p)		
GII: Gel de FC 0,5 % (p/p)		
GIII: Gel de FAE 0,5 % (p/p)		
GIV: Gel de FM 0,5 % (p/p)		
GV: Crema sulfadiazina de plata 1% (p/p)		
GVI: Base de gel		

EHA: extracto hidroalcohólico; FC: fracción cloroformo; FAE: fracción acetato de etilo; FM: fracción metanol

Anexo 5. Validación del instrumento de recolección de datos



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Validación del instrumento de recolección de datos

Tesis: "EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO, FRACCIONES (CP, AcOEt, MeOH) DE LA CORTEZA DE *Picus citrifolia* MILL EN RATONES ALBINOS"

Criterio de calificación 1: Muy bajo; 2: Bajo; 3: Moderado; 4: Alto; 5: Muy alto

Criterios de evaluación	Valoración				
	1	2	3	4	5
Es claro y preciso					X
Su aplicación no demanda esfuerzos excesivos					X
Reune los datos principales del estudio				X	
Contiene todos los grupos a estudiar					X
Relaciona el indicador con el ítem				X	
Su aplicación contribuirá a probar las hipótesis					X

Puntaje final:

28

Aprobado (puntaje \geq 20):

Si

Desaprobado (puntaje $<$ 20):

Observaciones:

.....
.....

Docente responsable: Dr. Q.F. Bonilla Rivers, Pablo Enrique:



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Validación del instrumento de recolección de datos

Tesis: "EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO, FRACCIONES (CF, AcOEt, MeOH)
DE LA CORTEZA DE *Ficus cibrifera* MIH EN RATONES ALBINCOS"

Criterio de calificación: 1: Muy bajo; 2: Bajo; 3: Moderado; 4: Alto; 5: Muy alto

Criterios de evaluación	Valoración				
	1	2	3	4	5
Es claro y preciso					X
Su aplicación no demanda esfuerzos excesivos					X
Reune los datos principales del estudio					X
Contiene todos los grupos a estudiar					X
Relaciona el indicador con el ítem					X
Su aplicación contribuirá a probar las hipótesis					X

Puntaje final:

30

Aprobado (puntaje \geq 20):

Si

Desaprobado (puntaje $<$ 20):

Observaciones:

.....
.....

Docente responsable: Mg. Q.F. Acosta Cornejo, Orlando:



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Validación del instrumento de recolección de datos

Tesis: "EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO, FRACCIONES (CF, AcOEt, MeOH) DE LA CORTEZA DE *Ficus citrifolia* MILL EN RATONES ALBINOS"

Criterio de calificación: 1: Muy bajo; 2: Bajo; 3: Moderado; 4: Alto; 5: Muy alto

Criterios de evaluación	Valoración				
	1	2	3	4	5
Es claro y preciso					X
Su aplicación no demanda esfuerzos excesivos				X	
Reune los datos principales del estudio					X
Contiene todos los grupos a estudiar					X
Relaciona el indicador con el ítem					X
Su aplicación contribuirá a probar las hipótesis					X

Puntaje final:

29

Aprobado (puntaje \geq 20):

SÍ

Desaprobado (puntaje $<$ 20):

Observaciones:

Apto para la Investigación

Docente responsable: Mg. Q.F. Flores López, Oscar Bernuy:

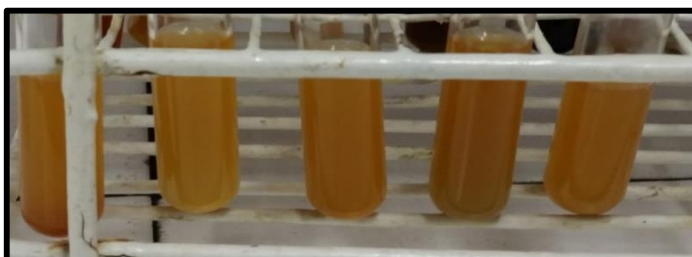
Anexo 6. Testimonios fotográficos de tratamiento de la muestra y del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico



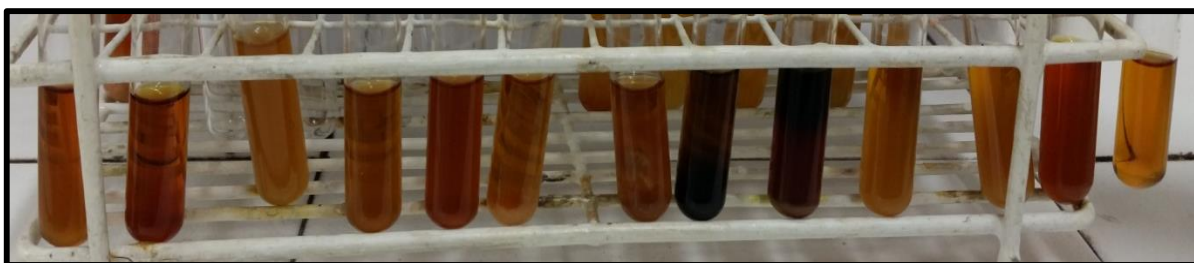
Trozado y pulverizado de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill



Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en agua, según el orden de tabla 5, de izquierda a derecha.

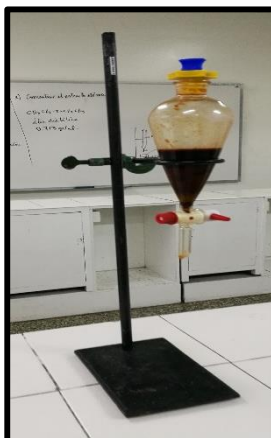


Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en H₂O acidificado en el orden que se muestra en tabla 6, de izquierda a derecha.



Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en MeOH en el orden que se menciona en la tabla 7, de izquierda a derecha.

Anexo 7. Testimonios fotográficos del fraccionamiento por método líquido – líquido o reparto



Fraccionamiento por reparto del extracto extracto hidroalcohólico de *Ficus citrifolia* Mill con solventes cloroformo, acetato de etilo y metanol.

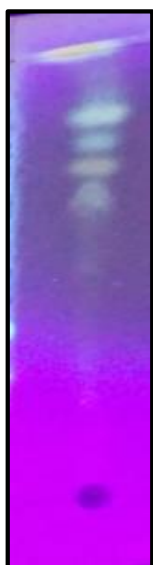
Anexo 8. Testimonios fotográficos de cromatografía de capa fina

Triterpenos

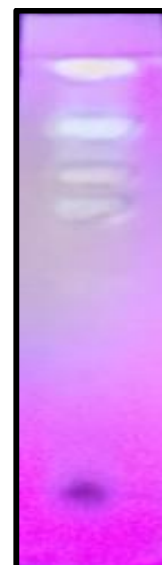
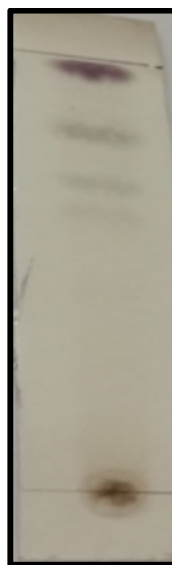
Fase móvil: Tolueno: Acetato de etilo (70:30)

Revelador: Reactivo de Liebermann Burchard, aspersar y calentar 10 minutos a 110° C. Mancha fluorescente a la luz UV-365nm.

Detección: Δ^5 -3-esteroles, otros esteroles y glicósidos terpénicos



Fracción cloroformo (+)



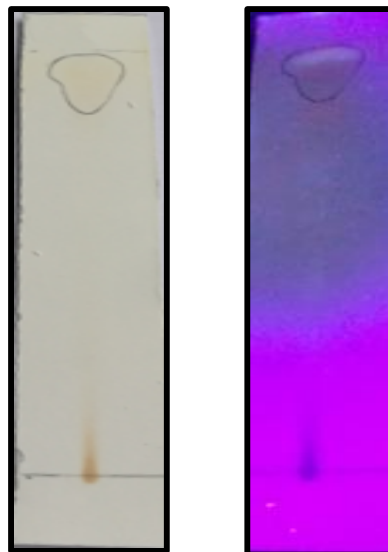
Fracción acetato de etilo (+)

Quinonas

Fase móvil: acetato de etilo: metanol (90:10)

Revelador: Borntrager

Detección: quinonas hidroxiladas fluorescente a la luz UV-365nm.



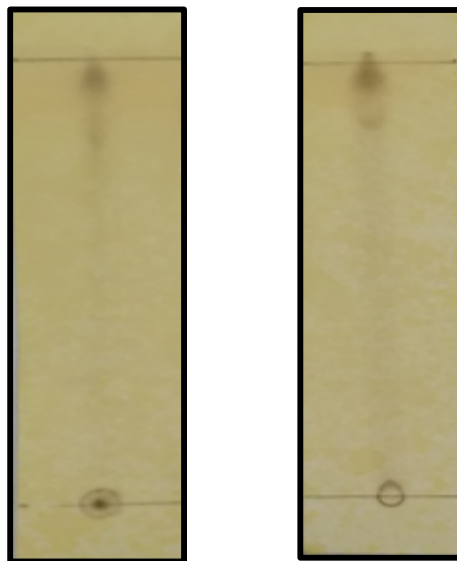
Fracción acetato de etilo (+)

Taninos

Fase móvil: Metanol: agua (70:30)

Revelador: Reactivo de cloruro férrico

Detección: Azul o marrón=taninos



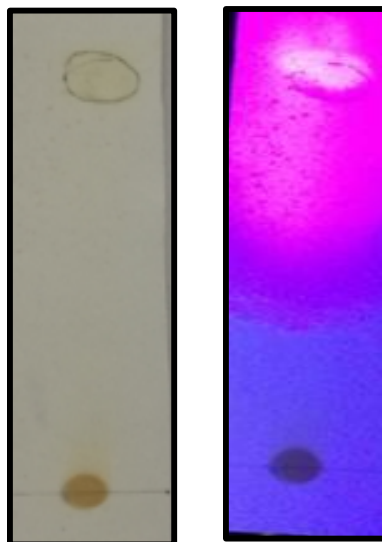
Fracción acetato de etilo (+) Fracción metanol (+)

Flavonoides

Fase móvil: Acetato de etilo: agua (90:10)

Revelador: Reactivo de cloruro de aluminio

Detección: Fluorescencia amarilla bajo luz UV 365nm



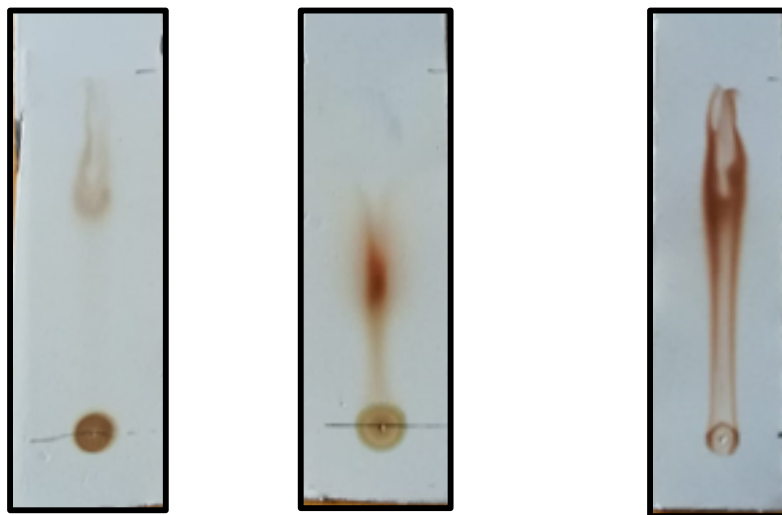
Fracción acetato de etilo (+)

Alcaloides

Fase móvil: Ácido acético: metanol: agua (100:13,5:1)

Revelador: Reactivo de Dragendorff según Munier

Detección: Anaranjado-rojo en fondo amarillo



Fracción cloroformo (+) Fracción acetato de etilo (+) Fracción metanol (+)

Anexo 9. Testimonios fotográficos de preparación del gel con extracto hidroalcohólico y fracciones



Preparación de gel de fracción cloroformo de *Ficus citrifolia* Mill a concentración 0.5%.



Preparación de gel de fracción acetato de etilo de *Ficus citrifolia* Mill a concentración 0,5%.



Preparación de gel de fracción metanol de *Ficus citrifolia* Mill a concentración 0,5%.

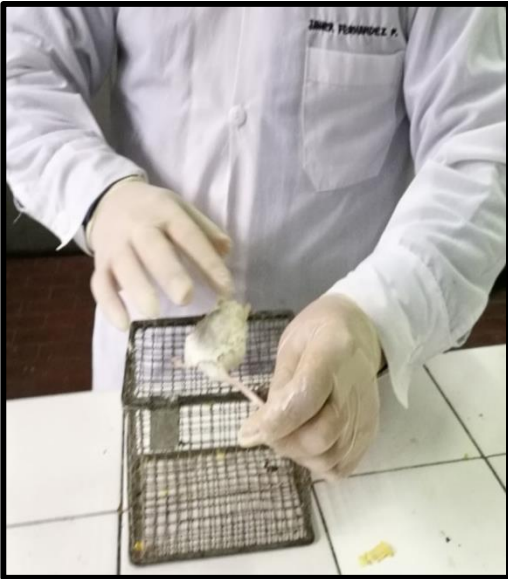


Preparación de gel de extracto hidroalcohólico de *Ficus citrifolia* Mill a concentración 1%.



Preparación de base de gel

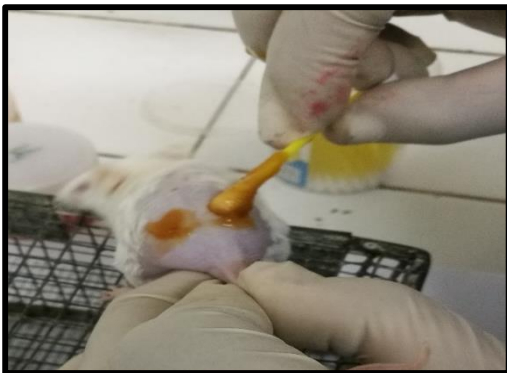
Anexo 10. Testimonios fotográficos de ensayo del efecto cicatrizante por método tensiométrico



Depilación del lomo de ratón con crema corporal



Incisión de las heridas en lomo de ratón



Aplicación de los tratamientos

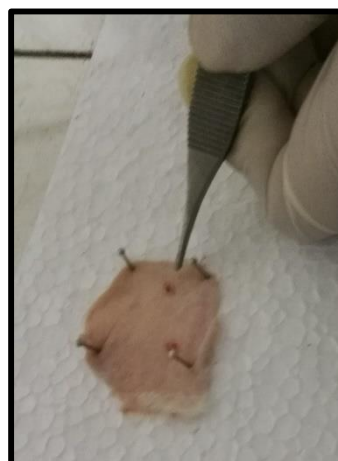


Aplicación de sobre dosis de pentobarbitla sódico



Medición de la fuerza de tensión expresado en gramos de arena

Anexo 11. Testimonios fotográficos del estudio histopatológico



Obtención de las muestras para el estudio histopatológico



Microscopio electrónico marca Nikon, utilizado en estudio histopatológico

Anexo 12. Prueba estadística HSD Tukey para subconjuntos homogéneos

HSD Tukey ^a					
Peso en gramos (g)					
Tratamiento por grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
GB	7	49,2714			
EHA	7	49,9429			
FC	7		64,0000		
FM	7			93,8857	
SDP	7			103,2286	103,2286
FAE	7				104,6714
Sig.		1,000	1,000	,099	,998

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 7,000.

Anexo 13. Prueba estadística de comparaciones múltiples HSD Tukey

Variable dependiente: Fuerza de tensión expresado en gramos (g)

(I) Tratamiento por grupo	(J) Tratamiento por grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
EHA	FC	-14,05714*	3,45174	,003	-24,4420	-3,6723
	FAE	-54,72857*	3,45174	,000	-65,1134	-44,3438
	FM	-43,94286*	3,45174	,000	-54,3277	-33,5580
	SP	-53,28571*	3,45174	,000	-63,6705	-42,9009
	GB	,67143	3,45174	1,000	-9,7134	11,0562
FC	EHA	14,05714*	3,45174	,003	3,6723	24,4420
	FAE	-40,67143*	3,45174	,000	-51,0562	-30,2866
	FM	-29,88571*	3,45174	,000	-40,2705	-19,5009
	SP	-39,22857*	3,45174	,000	-49,6134	-28,8438
	GB	14,72857*	3,45174	,002	4,3438	25,1134
FAE	EHA	54,72857*	3,45174	,000	44,3438	65,1134
	FC	40,67143*	3,45174	,000	30,2866	51,0562
	FM	10,78571*	3,45174	,038	,4009	21,1705
	SP	1,44286	3,45174	,998	-8,9420	11,8277
	GB	55,40000*	3,45174	,000	45,0152	65,7848
FM	EHA	43,94286*	3,45174	,000	33,5580	54,3277
	FC	29,88571*	3,45174	,000	19,5009	40,2705
	FAE	-10,78571*	3,45174	,038	-21,1705	-,4009
	SP	-9,34286	3,45174	,099	-19,7277	1,0420
	GB	44,61429*	3,45174	,000	34,2295	54,9991
SP	EHA	53,28571*	3,45174	,000	42,9009	63,6705
	FC	39,22857*	3,45174	,000	28,8438	49,6134
	FAE	-1,44286	3,45174	,998	-11,8277	8,9420
	FM	9,34286	3,45174	,099	-1,0420	19,7277
	GB	53,95714*	3,45174	,000	43,5723	64,3420
GB	EHA	-,67143	3,45174	1,000	-11,0562	9,7134
	FC	-14,72857*	3,45174	,002	-25,1134	-4,3438
	FAE	-55,40000*	3,45174	,000	-65,7848	-45,0152
	FM	-44,61429*	3,45174	,000	-54,9991	-34,2295
	SP	-53,95714*	3,45174	,000	-64,3420	-43,5723

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05

Anexo 14. Certificado sanitario de Ratones albinos otorgado por el Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud.

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

CERTIFICADO SANITARIO N° 195- 2018

Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M-28-2018
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 45
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 1 mes
Peso	: 15 a 24 g.	Sexo	: machos

Guía de remisión	: 036097	Destino	: Fernández Flores, Javier
------------------	----------	---------	----------------------------

Chorrillos : 09 - 07 - 2018

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

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

Chorrillos, 09 de julio del 2018
(Fecha de emisión del certificado)


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

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

Anexo 15. Grupo de Investigación en Productos Naturales

La investigación en la cual se buscó evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico del *Ficus citrifolia* Mill y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol), fue desarrollada como parte del proyecto de investigación financiado por la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, con la finalidad de fomentar y contribuir al conocimiento de nuevas alternativas medicinales naturales para la población del Perú y el mundo.

INTEGRANTES DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Directora de la investigación:

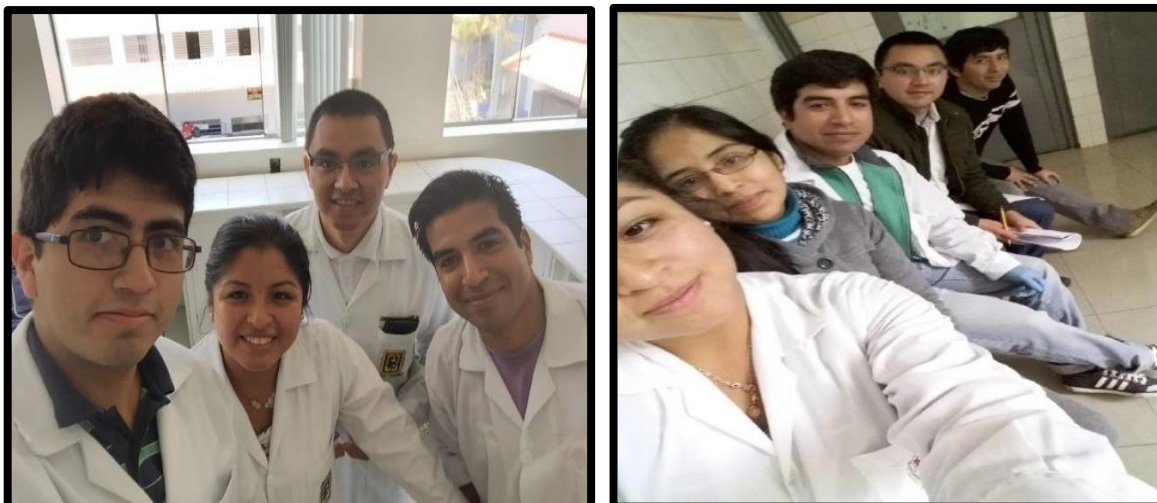
Mg.Q.F. Herrera Hernández, Nora

Coordinadores:

- Bach, Fabián Medina Dick
- Bach, Orejón Gómez Denisse

Estudiantes:

- Fernández Flores Javier
- Carranza Chavez Jilmer
- Rodríguez Zelada Fernando
- Mayhua Orellana Ana



Integrantes del grupo de investigación