

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL ELABORADO CON EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS FLORES DE *Matricaria chamomilla* L.
(manzanilla) EN RATONES ALBINOS

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO Y
BIOQUÍMICO

TESISTAS: Bach. Muñoz Yucra, Luis Alberto
 Bach. Tueros Vásquez, Juan Manuel.

ASESOR: Mg. QF. Salvador Carrillo, José Fernando

LIMA-PERÚ

2019

COPIA DEL ACTA DE SUSTENTACIÓN

DEDICATORIA

Este trabajo en especial es dedicado a Dios, por darme fuerzas para poder acabar mi carrera y darme bendiciones en todo lo que hago y guiar mis pasos y darme salud a mí, y a mi familia.

Dedicar a mi madre y a mi padre por todo el apoyo incondicional tanto en las buenas y en las malas por darme fuerzas solo con verlos a ellos de lograr sus objetivos y a toda mi familia que siempre me apoyó.

Juan Manuel

En definitiva luego de agradecer a Dios, dedicación profunda a mis padres por la vida y su constante sacrificio, el empeño de superación es lo aprendido en el seno familiar, a pesar del tiempo demostrando cuán lejos se puede llegar... ¡sí es posible!

También a mi núcleo familiar mi compañera de la vida y a mis dos amados hijos por dejarse desacompañar sintiendo las muchas ausencias, alentándome con orgullo desde su espacio para hacer realidad lo que parecía imposible, a ellos mi dedicación y agradecimiento.

Luis

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Inca Garcilaso de la Vega por brindar información, orientación e instalaciones de sus ambientes en el desarrollo del presente trabajo, resolver incógnitas en resultados tanto prácticos, estadísticos, histológicos, así como en la mejora de la línea investigativa.

Al asesor de la presente tesis por el apoyo importante.

A los docentes que contribuyeron de muchas formas con su experiencia y conocimiento en la resolución de la presente, de manera especial a los: Mg. Orlando Acosta, Mg. Enrique Montánchez, y, Mg. Marlon Padilla, con sus agudas opiniones y alcances aportaron en la mejora de la metodología.

Al gran colega, compañeros de clase, por no dejar desfallecer en los momentos de poca lucidez e inducir al intento una y otra vez, la cual llevo horas de intercambio en discusiones llenos de conocimiento y motivación constante.

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
A.O.A.C	Asociación de Químicos Analíticos
Cm	Centímetros
C.C.F.	Cromatografía capa fina
DNPH	Dinitrofenilhidrazina
EDTA	Etilendiaminotetraacético
G.E.1	Grupo experimental 1
G.E.2	Grupo experimental 2
G.E.3	Grupo experimental 3
H.B.K	Humboldt, Bonpland y Kunth
HR	Humedad relativa
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
HCl	Ácido clorhídrico
L	Lineo Carlos
M	Molaridad
ml	Mililitro
Mm	Milímetros
N	Normalidad
O.M.S	Organización Mundial de la Salud
P.A.	Principio activo
PH	Potencial de Hidrogeno
V.M.T	Villa María del Triunfo
SiCl ₄	Tetracloruro de silicio
UNMSN	Universidad Nacional Mayor de San Marcos
USP	Farmacopea de Estados Unidos (<i>United States Pharmacopeia</i>)

ÍNDICE GENERAL

Acta de sustentación

Dedicatoria

Agradecimiento

Abreviaturas

Índice de tablas

Índice de figuras

Índice de anexos

Resumen

Abstract

	Página
Introducción.....	1
CAPÍTULO I. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.	3
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	3
1.2. Formulación del Problema.....	4
1.2.1 Problema General.....	4
1.2.2 Problemas Específicos.....	4
1.3. Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo general.....	5
1.3.2 Objetivos específicos.....	5
1.4. Justificación e importancia del estudio.....	6
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	7
2.1 Antecedentes del Estudio.....	7
2.1.1 Nacionales.....	7
2.1.2 Internacionales.....	10
2.2 Bases Teóricas.....	13
2.3 Hipótesis.....	27
2.3.1 Hipótesis general.....	27
2.3.2 Hipótesis específicas.....	27

2.4	Variables.....	28
2.4.1	Operacionalización de variables.....	28
2.5	Marco Conceptual.....	28
CAPÍTULO III: MÉTODO.....		30
3.1	Tipo de estudio.....	30
3.2	Diseño a utilizar.....	30
3.3	Población.....	32
3.4	Muestra.....	32
3.5	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	32
3.6	Procesamiento de Datos.....	36
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....		48
4.1	Presentación de resultados.....	48
4.2	Contrastación de hipótesis.....	56
4.3	Discusión de resultados.....	59
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		60
5.1	Conclusiones.....	60
5.2	Recomendaciones.....	61
REFERENCIAS.....		62
ANEXOS.....		66
-Matriz de Consistencia		
-Certificados o constancias		
-Otros		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1	Operacionalización de variables.....	28
Tabla N° 2	De la metodología de estudio	30
Tabla N° 3	Equipos necesarios para la investigación.....	33
Tabla N° 4	Materiales de vidrio y otros instrumentos.....	34
Tabla N° 5	Insumos necesarios para la marcha fitoquímica.....	35
Tabla N° 6	Modelo de ficha marcha fitoquímica.....	38
Tabla N° 7	Excipientes para elaboración del gel.....	42
Tabla N° 8	Extracto en polvo para el gel.....	43
Tabla N° 9	Resultados de la reacción de solubilidad.....	48
Tabla N° 10	Resultados de la marcha fitoquímica.....	49
Tabla N° 11	Resultados de la identificación de metabolitos primarios.....	50
Tabla N° 12	Resultados de la identificación de proteínas y aminoácidos.....	50
Tabla N° 13	Pesos de los animales.....	51
Tabla N° 14	Resultados fuerza de tensión	52
Tabla N° 15	Eficacia de la cicatrización.....	53
Tabla N° 16	Contraste con ANOVA.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1	Nacimiento de camazuleno a partir de la hidrodestilación.....	17
Figura N° 2	Alfa bisabolol y derivados.....	18
Figura N° 3	Flavonoides en gran cantidad.....	18
Figura N° 4	Apigenina.....	19
Figura N° 5	Quercetina.....	20
Figura N° 6	Esquema de línea de tiempo de los experimentos.....	31
Figura N° 7	Esquema de flujo de la materia prima	37
Figura N° 8	Animales de experimentación.....	44
Figura N° 9	Ambiente del bioterio de la UNMSM.....	45
Figura N° 10	Cortes para el estudio histopatológico.....	47
Figura N° 11	ANOVA del peso inicial de los animales.....	51
Figura N° 12	Elasticidad de la herida prueba de ANOVA.....	52
Figura N° 13	Determinación del proceso de cicatrización.....	53

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo N° 1	Matriz de consistencia.....	66
Anexo N° 2	Certificado de muestra botánica <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla).....	67
Anexo N° 3	Ficha de observación AD-HOC 1.....	68
Anexo N° 4	Ficha de observación AD-HOC 2.....	69
Anexo N° 5	Ficha de observación AD-HOC 3.....	70
Anexo N° 6	Ficha de observación, recolección efecto cicatrizante.....	71
Anexo N° 7	Manzanilla biohuerto Santa Rosa.....	72
Anexo N° 8	Elección de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla).....	72
Anexo N° 9	Obtención, Filtración y secado.....	73
Anexo N° 10	Solubilidad.....	73
Anexo N° 11	Determinación de proteínas y aminoácidos.....	74
Anexo N° 12	Depilación y prueba de toxicidad.....	75
Anexo N° 13	Tratamiento de los grupos.....	75
Anexo N° 14	Sedación.....	76
Anexo N° 15	Evaluación con el dinamómetro.....	76
Anexo N° 16	Cortes histológicos.....	77
Anexo N° 17	Muestras histológicas.....	77
Anexo N° 18	Presentación del producto comercial.....	78
Anexo N° 19	Certificado de ratón.....	79
Anexo N° 20	Resultados de análisis con Tukey comparaciones múltiples.....	80

RESUMEN

El objetivo fue determinar si el gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) presenta efecto cicatrizante en ratones albinos. La muestra vegetal fue recolectada en el Biohuerto Santa Rosa – Lima y la especie fue confirmada taxonómicamente. Se usaron las flores de esta planta para elaboración del gel tópico a diferentes concentraciones. Se utilizaron ratones albinos provenientes del bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de 4 a 5 meses de edad, separados en 6 grupos de 5 individuos aleatoriamente: grupo blanco, control negativo (gel base), control positivo (Cicatricure®) y tres grupos experimentales (10%, 15% y 20%, del gel elaborado). Aplicándose los geles en el tercio superior del lomo del animal previamente depilados. Resultados de la marcha fitoquímica evidenciaron metabolitos importantes como flavonoides. En test de cicatrización, todos los grupos experimentales evidenciaron un mejor proceso de cicatrización cuando comparados con el grupo blanco ($p < 0,0001$) y, entre estos, el grupo que recibió el gel 20% de concentración mostró un mejor efecto cicatrizante ($p < 0,0001$) y que además no fue diferente significativamente al grupo control positivo ($p > 0,05$). No obstante, en estudios histopatológicos se observó reacción inflamatoria acompañada de mayor fibrosis en dermis, posiblemente por presencia excesiva de flavonoides en gel. Este fenómeno no se evidenció en el gel a concentración del 15% del extracto. Se concluye que el gel elaborado a partir del extracto etanólico de manzanilla presenta efecto cicatrizante en ratones albinos.

Palabras clave: Manzanilla, cicatrización, gel, extracto etanólico, concentración.

SUMMARY

The objective was to determine if the gel of the ethanolic extract of the flowers of *Matricaria chamomilla* L. (chamomile) has a healing effect in albino mice. The plant sample was collected in the Biohuerto Santa Rosa - Lima and the species was taxonomically confirmed. The flowers of this plant were used to make the topical gel at different concentrations. Albino mice from the bioterio of the National University of San Marcos from 4 to 5 months of age were used, separated into 6 groups of 5 individuals randomly: white group, negative control (base gel), positive control (Cicatricure®) and three experimental groups (10%, 15% and 20%, of the gel produced). Applying the gels in the upper third of the loin of the animal previously shaved. Results of the phytochemical gait showed important metabolites such as flavonoids. In the healing test, all the experimental groups showed a better healing process when compared to the white group ($p < 0.0001$) and, among these, the group that received the 20% concentration gel showed a better healing effect ($p < 0.0001$) and that also was not significantly different from the positive control group ($p > 0.05$). However, in histopathological studies, an inflammatory reaction was observed accompanied by increased fibrosis in the dermis, possibly due to excessive presence of flavonoids in the gel. This phenomenon was not evident in the gel at a concentration of 15% of the extract. It is concluded that the gel made from the ethanolic extract of chamomile has a healing effect on albino rattles.

Key words: Chamomile, cicatrization, gel, ethanolic extract, concentration.

INTRODUCCIÓN

Usar las plantas medicinales para tratamientos terapéuticos es una forma válida y común a lo largo del tiempo de la humanidad. Sigue siendo usado pues tienen función exclusiva de sanación fisiológica. Hoy se diseñan más y mejor las características de las plantas, de las sustancias activas extraídas para aplicación en seres vivos.¹

La fitoterapia, utiliza las especies vegetales por su gran eficiencia curativa. Las plantas medicinales se usan en variedad de formas, sirven como remedios tradicionales en el salvamiento de la salud, incluido aquellos que se hace difícil de solucionar como las heridas.

Una de las formas de tratamiento y sanación de heridas es justamente gracias al conocimiento ancestral de las plantas curativas, estas formas han constituido la base de la investigación científica, este conocimiento hace posible la evidencia científica a nivel cualitativa y cuantitativa.

Entre las plantas de gran alcance que favorecen los tratamientos con contenido farmacoterapéuticos se encuentran la hierba conocida como la *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla). Producto de la naturaleza con producción anual y que alcanza alturas de hasta 70 cm con mucha ramificación que florecen en inicio del mes de mayo hasta el mes de octubre.

La *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) al parecer tiene la capacidad del efecto cicatrizante. Castro² 2015 realizó una evaluación sobre el efecto desinflamante y cicatrizante en variedad de preparaciones en forma de infusión las cuales tuvieron contacto directo con la piel en orquiectomía en lechones (proceso de incisión de testículos), probando su infusión por 20 días continuos en heridas no inflamadas verificando resultados positivos entre 7 a 10 días. Sin embargo es necesario comprobar mediante diversas investigaciones sobre sus efectos así determinar cuál es la dosis correcta, qué tipo de extracto es necesario para alcanzar el rendimiento y funcionamiento adecuado.

Por ello, es esencial el estudio experimental del efecto cicatrizante de la *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) ya que suma al conocimiento e importante para poder comprobar sus propiedades que sin duda podría tener un impacto positivo en la población.

La presente investigación empaqueta un conjunto de alternativas de recursos y características farmacológicas al desarrollar e investigar un producto la cual es un gel con sustancias activas que se obtendrá a partir de un macerado de origen etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla), se investigará con el sustento encontrado sobre una de las capacidades que tiene esta planta como es cicatrizar heridas de manera tópica, en este caso será aplicada experimentalmente en animales de laboratorio como ratones albinos de la cepa BALB/c, se procederá a comparar con un producto en gel comercial.

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad problemática

En el Perú los insumos básicos en los sistemas de salud presentan deficiencias, el sector dedicado o destinado a la mejora de la calidad de vida ha llegado en sus distintas actividades a índices no acorde con los servicios que prestan respecto a la población generando un gasto de bolsillo enorme, creando necesidades y demandas a los ciudadanos que busca tratamientos terapéuticos entre ellos la sanación de heridas.³

La ineficiencia de los sistemas de salud encima la demanda del cuerpo médico posibilita que los ciudadanos acudan a una farmacia o botica inclusive evitando los centros conducidos por el Ministerio de Salud (MINSA), esta forma de buscar soluciones se vienen incrementando significativamente. Buena parte de esta población que recurre a boticas acuden por problemas de heridas de diversos tipos que requieren solución inmediata. La multiculturalidad de nuestra población y sus carencias socioeconómicas y sanitarias hace que el desarrollo del individuo se vea desfavorecido, enfocados en esa lid observamos un déficit y limitaciones de cobertura en la dispensación de medicamentos, estas limitaciones hacen posible la continuidad de la medicina natural como primera elección en el tratamiento de sus dolencias o heridas.^{3,4}

Esa observación manifiesta lleva a los autores a investigar para mejorar el conocimiento sobre el actuar de las plantas como sustancias fitoterapéuticas en seres vivos, describir la diversidad de efectos y propiedades beneficiosas que pudieran presentar. Las propiedades de las plantas específicamente las hierbas como la *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) no están del todo estudiadas por lo que se decidió guiados por una línea de investigación con el único propósito que pueda servir en la cicatrización de ciertas heridas sobre todo del tipo caseras teniéndolo como problema de salud pública.

1.2. Formulación del problema

Todas las menciones anteriores llevan a la formulación del problema en pos de mejorar la calidad de vida y salud de las personas.

1.2.1 Problema general

¿El gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) tendrá efecto cicatrizante en ratones albinos?

1.2.2 Problemas específicos

- 1.- ¿Qué metabolitos secundarios presenta el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) con un potencial efecto cicatrizante en ratones albinos?
- 2.- ¿Cuál será la concentración del gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) que tendrá mayor efecto cicatrizante en ratones albinos?
- 3.- ¿El gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) tendrá mayor efecto cicatrizante respecto al cicatricure en ratones albinos?

1.3. Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar si el gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) presenta efecto cicatrizante en ratones albinos.

1.3.2 Objetivos específicos

- 1.- Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) con un potencial efecto cicatrizante en ratones albinos.
- 2.- Determinar la concentración del gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) con mayor efecto cicatrizante en ratones albinos.
- 3.- Determinar si el gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) tiene mayor efecto cicatrizante respecto al cicatricure en ratones albinos.

1.4. Justificación e importancia del estudio

El estudio se justifica por las anomalías en las células que deja una herida casera ya que al no ser muy bien tratadas afectan al común de las personas dejando secuelas en la cicatrización, esta incorrecta cicatrización deja la cubierta cutánea desprotegida produciendo una simultánea pérdida de sustancias que pudieran extenderse a los tejidos u órganos cercanos empeorando aún más la situación del individuo. En el Perú, no se tiene un registro o datos estadísticos sobre los acontecimientos de la población con problemas de lesión en la piel causantes por heridas.

Por tales razones se justifica que los investigadores estudien la elaboración de un gel con el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla). El efecto cicatrizante tópico del gel elaborado busca ser una alternativa para solucionar problemas con heridas caseras mal curadas. Se busca soluciones aportando nuevos conocimientos, entregando la elaboración de un producto con plantas de fácil cultivo.

Con la presente investigación se pretende beneficiar a la población con escasos recursos económicos o difícil acceso a servicios de salud, tales motivos llevan a elaborar un gel de calidad con respuesta curativas que contendrán compuestos orgánicos las cuales se identificara en la parte experimental, dando la importancia al estudio.

Por lo mencionado el estudio pretende aportar, proyectándose con costos mínimos a la realidad investigativa, la propuesta tiene un material de fácil obtención, el proceso de la investigación se realizará en la Universidad Inca Garcilaso de la Vega (UIGV) pues proporcionará áreas de trabajo.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del Estudio

2.1.1 Nacionales

Pintado⁵ 2017, estudio “Extracción y determinación preliminar de metabolitos Secundarios presentes en las flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) provenientes de la provincia de Ayabaca, alto Piura, región Piura”. Objetivo: extraer y determinar metabolitos secundarios presentes en las flores de *Matricaria chamomilla*. Método: extracción por lixiviación y determinación mediante tamizaje fitoquímico “prueba de la gota”. Resultados: evidenció presencia de metabolitos secundarios tales como: triterpenos y esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, azúcares reductores, antocianidinas y resinas. Concluyendo: con la existencia de los mismos.

Guardia y Cosavalente⁶ 2015, investigaron la “Cuantificación de flavonoides totales de las flores tubulares de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) y su efecto en íleon aislado de *Cavia porcellus*”. Objetivo: cuantificación de las flavonoides y medir su efecto. Método: por espectrofotometría y evaluación del efecto sobre la frecuencia y amplitud de contracción muscular lisa inducidas por espasmógenos acetil colina e histamina. Resultados: ANOVA muestran diferencias significativas en variables amplitud y frecuencia de contracciones. Concluyendo: que la concentración de flavonoides expresados de 0.27g/100g posee efecto antiespasmódico disminuyendo la frecuencia de las contracciones similar a N-butil bromuro de hioscina y clorfenamina.

Pichilingue⁷ 2015, investigó el “Efecto cicatrizante de una crema dérmica formulada con la tintura *árnica montana* (árnica) en heridas inducidas en el lomo de ratones albinos y comparó con el hipoglos crema”. Objetivo: evaluó el efecto cicatrizante a diferentes concentraciones 0,5% y 1,5% p/v, comparándolo con “Hipoglos crema”, empleó las partes de las hojas y flores frescas. Método: de Vaisberg y col, utilizó 12 ratones albinos cepa Balb C 53

se indujo la herida. Resultados: la tintura “árnica”, tiene efecto cicatrizante a concentraciones 0.5% y 1.5%. Conclusión: tiene efecto cicatrizante con un grado de diferencias significativa de 1,000 frente al Hipoglos crema.

Mogrovejo⁸ 2014, estudió “Determinación del efecto cicatrizante de un gel estandarizado de *Calendula officinalis* L. (Calendula) en animales de experimentación”. Objetivo: evaluar el efecto cicatrizante en heridas producidas en animales. Método: extracción por percolación, obteniendo extracto glicólico al 20% y estandarizado en análisis cuantitativo del flavonoide quercetina por HPLC, elaborando los geles al 5 y 10% y evaluado en 16 ratas con 2 heridas por cada uno, 8 heridas gel al 5%, otras 8 gel al 10%, 8 el producto Cicatricure® y las ultimas 8 heridas gel base. Resultados: se usó el tensiómetro, aplicando cada 12 horas por 5 días, obteniendo similar eficacia con el preparado al 10% y el producto Cicatricure®. Concluyendo: que el gel al 10% es eficaz.

Lujan et al.⁹ 2018, Investigaron el “Desarrollo de un gel de fruto de *Vaccinium corymbosum* L. (Ericaceae) con actividad regeneradora de tejido dérmico”. Objetivo: desarrollar el gel con actividad regeneradora. Método: obtención del concentrado 10%, a partir de una mezcla de etanol y ácido cítrico al 1%, tiempo de extracción 2 horas, luego se concentró en rotavapor, contrastación se realizó con 24 ratas machos distribuidas en tres grupos: control, gel del concentrado 10% (problema) y Cicatricure® (patrón). Resultados: evaluaron la evolución de cicatrización de 0 a 21 días (nivel macroscópico), y, en estudio histológico (nivel microscópico). Conclusión: el gel del concentrado al 10% presentó mejor capacidad regeneradora de tejido dérmico desde los 7 días de tratamiento, e incrementó la promoción de los procesos de epitelización, neovascularización, y, proliferación de fibroblastos y colágeno.

Gallardo y Barboza¹⁰ 2015, estudió el “efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* (Sangre de Drago)”. Objetivo: determinar el efecto cicatrizante del gel a diferentes concentraciones (0,5, 1 y 2%). Método y diseño: investigación experimental de corte transversal, nivel relacional, gel a base de sepigel, se usaron 15 ratones *rattus rattus var. albinus* se empleó el test de cicatrización, al octavo día del proceso, los ratones fueron sacrificados

por sobredosis de pentobarbital sódico, se midió la fuerza de tensión con el dinamómetro para determinar la cicatrización de heridas grupo A control negativo, grupo B control positivo (Cicatricure®), grupo C gel al 0.5%, grupo D gel 1%, y grupo E gel al 2%. Resultados: favorables en un 95% de confianza mediante las pruebas estadísticas: ANOVA One Way y Prueba de Tukey. Concluyendo: que se obtuvo mayor efecto con el gel al 2% de látex de *Croton lechleri* “Sangre de Drago”.

Chávez et al.¹¹ 2017, estudio el “efecto cicatrizante de una crema formulada a partir de homogenizado de cordón umbilical humano en heridas incisas inducidas en ratones”. Objetivo: Determinar el efecto cicatrizante en heridas incisas en ratones. Material y Métodos: emplearon 24 ratones albinos, se les practicó una incisión de ± 7 mm de diámetro en dorso previamente depilado; Grupo control negativo (crema base); Grupo experimental (crema de homogenizado de cordón umbilical 1%); Grupo control positivo (Crema Hipoglos®), se valoró el área de lesión, y estudio histológico. Resultados: El porcentaje de cierre de las heridas en el grupo control negativo, crema de homogenizado de cordón umbilical (CU) e Hipoglos fueron 84.3%; 90.3% y 83.3% respectivamente; sin embargo el estudio histopatológico mostró aumento de fibroblastos y linfocitos en el grupo con homogenizado de CU. Conclusión: La formulación al 1% mejora la calidad de la cicatrización de heridas inducido en ratones.

Salazar¹² 2018, estudió el “efecto cicatrizante y regenerativo de los geles tópicos elaborados a base del extracto seco de las hojas de *Mauria heterophylla* H.B.K., tres hojas en ratas albinas”. Objetivo: evaluar el efecto y determinar la actividad cicatrizante. Método: determinó la actividad cicatrizante, en función de la resistencia a la tensión y evolución histológica positiva del tejido curado, elaboró geles tópicos al 5 y 10%, uso 42 especímenes distribuidos en seis grupos experimentales. Resultados: la formulación con mayor actividad cicatrizante fue la del gel al 10%, que mostró una resistencia a la tensión media de 132,14 mL, seguido por el gel al 5% y Cicatricure ® gel, y por último el gel placebo mostrando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,005$; IC=95%); el análisis histológico

corroboró los resultados obtenidos en el test de cicatrización. Conclusión: esta planta es prometedora para el tratamiento de heridas ya que estimula eficazmente el proceso de cicatrización.

2.1.2 Internacionales

Loja¹³ 2014, Investigó “elaboración de un gel antimicótico a base de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y matico (*Piper angustifolium*)”. Objetivo: elaboración del gel cumpliendo los parámetros fisicoquímico y control de calidad. Método: determinó la humedad, cenizas totales, solubles e insolubles, perezas e impurezas y solidos totales de la manzanilla y matico, el pH, untuosidad al tacto cumpliéndose con la Norma Ecuatoriana de Fitofármacos, ausencia de microorganismos contaminantes como bacterias y hongos. Resultados: el gel tiene un tiempo de vida útil de 1 año, en el ensayo en animales con 3 aplicaciones diarias logró eliminar la tiña producidas por hongos en piel; el ensayo clínico en personas voluntarias mayores de 18 años que acudieron a la Dra. Martha Castillo Bermeo el tratamiento 3 veces/día durante 34 días eliminó las micosis superficiales como las tiñas y pie de atleta en diferentes partes del cuerpo. Concluyendo: la efectividad de la misma.

Castro² 2015, investigó “evaluación del efecto desinflamatorio y cicatrizante de 3 diferentes concentraciones de infusión de Manzanilla vía tópica en orquiectomía de lechones”. Objetivo: evaluó diferentes concentraciones de una infusión de manzanilla vía tópica. Método: aplicó las infusiones en la herida causada por orquiectomía de lechones de una semana de edad, se aplicaron dos veces/diarias por 7 días y la violeta genciana solo una aplicación durante 14 días, se usó 4 grupos de 10 lechones cada uno, infusión de manzanilla al 2, 4 y 6% y el grupo control violeta genciana. Resultados: la desaparición de la costra y el cierre completo de la herida, en los tres grupos de la infusión de manzanilla al 2, 4 y 6% fue de once días y en el grupo de violeta genciana fue de catorce días. Conclusión: al 4% presentó mejor efecto de la herida siendo una alternativa de fácil acceso para la desinflamación y cicatrización de heridas ocasionadas por orquiectomía de lechones.

Proaño¹⁴ 2013, estudió “comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de romero, matico y cola de caballo en heridas inducidas en ratones”. Objetivo: evaluó la actividad cicatrizante de la crema. Método: inducción de una herida en la región escapular de 15 ratones para la aplicación de 5 tratamientos: Control (+) = Crema Procicar, Control (-) = blanco, Grupo A proporción de 50:30:20, Grupo B 30:50:20, Grupo C 20:30:50 = crema de extractos fluidos de Romero, Matico y Cola de Caballo, vía tópica 2 veces día por 15 días. Resultados: al estadístico test ANOVA, T-student, intervalo de confianza del 95%, obteniendo una efectividad 67.7% en Grupo C y de un 42% Grupo A y B. Conclusión: la crema Grupo C posee actividad cicatrizante en 10 días por la presencia de flavonoides en las tres plantas y taninos en cola de caballo.

Cruz¹⁵ 2010, “elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla, matico y marco para Neo-Fármaco”. Objetivo: elaboración de 2 antimicóticos al 25% en gel a base de la mezcla de manzanilla, matico y marco, el primero sin antioxidante y el segundo con antioxidante. Método: usar ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) cumpliendo los requisitos de estabilidad y calidad, calcular la vida útil del producto final, materia prima, análisis de espectrofotometría y cromatografía según normatividad Ecuatoriana de medicamentos herbolarios, la OMS, la Asociación de Químicos Analíticos (AOAC), y la Farmacopea Americana. Resultados: se envasaron en cilindros colapsibles de aluminio y plástico para someterlo a estabilidad acelerada de un trimestre, a 20, 30 y 40°C con humedad relativa (HR) del 70%. Conclusión: la evaluación registro que los dos antimicóticos en gel tienen 2 años de utilidad.

Garbuio et al.¹⁶ 2018, estudiaron “seguridad de una formulación conteniendo micropartículas de quitosano con manzanilla: ensayo clínico, enmascarado y controlado”. Objetivo: evaluar la seguridad de una formulación tópica, conteniendo micropartículas de manzanilla revestidas con quitosano, en la piel de participantes sanos. Método: ensayo clínico fase I, enmascarado, controlado, no aleatorizado, de dosis única, con controles de la piel, de la base de la formulación y de la formulación con micropartículas. Las variables

analizadas fueron irritación e hidratación por medio de los tests de Wilcoxon y Kruskall-Wallis. Iniciaron el estudio 35 participantes sin patologías previas. Resultados: la formulación test no causó eritema, descamación, ardor, prurito o dolor; hubo mejora en la hidratación cutánea en el local de aplicación de la formulación con las micropartículas. Concluso: la formulación con micropartículas de manzanilla es segura para el uso tópico, no provocando irritación y mejorando la hidratación cutánea a lo largo de cuatro semanas de uso.

Martinez et al.¹⁷ 2014, estudió “evaluación in vivo del efecto cicatrizante de un gel a base de quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*”. Objetivo: evaluar el efecto sinérgico sobre la velocidad de cicatrización ya que presenta actividad antimicrobiana e inmunológica acelerando la cicatrización. Método: uso del gel quitosano, aplicándolo en heridas de 1 cm² a 48 ratones albinos, agrupados en cuatro tratamientos; Quitosano 0.15 y 0.30%, producto cicatrizante (Ketanserina al 2%) y blanco (sin tratamiento). Resultados y conclusiones: cicatrización sin tratamiento y producto comercial 14 días, efecto cicatrizante del control 0%, geles de quitosano 0.15 y 0.30% cicatrizaron en 7 días (P> 0.05) con efecto cicatrizante del 58% para el quitosano 0.15 y 64% para el quitosano 0.30.

González¹⁸ 2015, investigo la “comparación del efecto cicatrizante de la pomada a base de milenrama (*Achillea millefolium*), corteza de encino (*Quercus acatenangensis trelease*), sábila (*Aloe vera*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) versus violeta de genciana en heridas post-castración de lechones”. Objetivo: evaluar respuesta de 32 lechones, con dos tratamientos, en heridas post-castración. Método: usó violeta de genciana y una pomada a base de milenrama, corteza de enciso, sábila y clavo de olor, los lechones machos, de igual raza y las mismas condiciones de manejo. Resultados: los tratamientos fueron observados después de la castración cada 24 horas donde se evaluó la reducción del tamaño de la herida. Se encontró diferencia significativa a favor de la violeta de genciana. Conclusión: se observó que el 100 % de las heridas no presentó exudado de ningún tipo.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Fitoterapia

Expresión planteada por el médico francés Henri Leclerc a inicios del siglo XX, neologismo derivado de: *phytón* (planta) y *therapeía* (tratamiento) por lo cual hace referencia al tratamiento de enfermedades con plantas. En la actualidad es una ciencia que estudia la utilidad del origen de productos vegetales con fines terapéuticos, en la prevención, atenuación o mejora en la sanación de enfermedades.^{19,20}

La fitoterapia estudia las sustancias que son usadas como medicamento, lo tenemos vigente hasta nuestros días, por lo tanto, la integración de la terapia vegetal en la terapéutica tiene una base histórica y una base química.^{19,20}

Las formulaciones de laboratorios son continuamente cuestionada, por las consecuencias graves que se han venido presentando, como son:^{19,20}

- Los efectos adversos de los medicamentos cargados de fatalidad en los consumidores y pacientes.
- La adherencia de la evidencia científica a nivel clínico, químico, y farmacológico de las sustancias vegetales y sus derivados.
- El control de calidad y facilidad en métodos de análisis.

Farmacológicamente la acción de los metabolitos secundarios de la planta se encuentran en todas partes del vegetal de elección como en semillas, raíces, flores, tallo, ramas, frutos, hojas, ápice o al extremo de la planta más alta. En farmacología se usa dependiendo del tratamiento del paciente una mezcla de principios activos aislados, por lo que lleva al sinergismo y acciones colaterales en el interior del paciente.^{19,20}

2.2.1.1 Principios activos de las plantas medicinales

A. Compuestos fenólicos simples: fenoles y heterósidos

Están compuestas por sustancias fitoquímicos simples conteniendo en su estructura un anillo fenólico sustituido. Como ejemplo tenemos el catecol, el

pirogalol y los ácidos: cinámico y cafeico. *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) hierba que produce compuestos con estas características.^{19,31}

La numeración en lugar de ubicación del anillo fenólico del grupo hidroxilo y la posición podría relacionarse directamente con la producción de efectos perjudiciales (toxicidad) frente a especies de microorganismos.^{19,21}

B. Los taninos

Son un grupo de sustancias orgánicas fenólicas y poliméricas, es posible dividir en hidrolizables y condensables.^{19,21}

2.2.1.2 Métodos para la aplicación de las plantas

A. Infusión

Es una forma de preparación o elaboración de líquidos calientes que se ponen en contacto con un producto vegetal, pudiendo ser cualquiera de las partes de la planta o hierba para que pueda hibridar sus componentes. Este tipo de preparados ha sido y es una práctica común gracias a la facilidad con que se consigue consumir o utilizar las sustancias orgánicas que se desprenden de ella; hoy el conocimiento tecnológico que desde lo empírico ha desarrollado instrumentos a gran escala para obtener sustancia que posteriormente ser empacados en formas farmacéuticas para consumo humano y el cuidado de la salud.^{19,22}

B. Extracto

Como se indica es extraer algo o parte de una materia prima, por lo tanto con esta técnica se alcanza la separación de las sustancias activas de un material biológico como principios activos o metabolitos, obteniéndose al menos un par de componentes. Esta técnica tiene cuatro tipos o formas de extraer las sustancias muy concentradas (prensado, absorción, maceración y destilación) así por ejemplo la maceración es una forma de contacto de la droga y el solvente durante algún tiempo, lo clásico consiste en dejar la droga en contacto con el solvente durante varios días, con agitación ocasional.^{19,23}

2.2.2 *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla)

2.2.2.1 Descripción general

Esta planta conocida también como hierba aromática tiene su origen en Europa, se acostumbra y es utilizada desde antaño, siempre por su asombrosa propiedad curativa de características importantes como desinflamante, relajante y hasta sedante. Chamomilla deriva del griego “chamaemelum” significando “manzanas en el suelo” por qué la planta es pequeña, rastrera y desprende un aroma a manzana, la palabra matricaria deriva del latín “matrix” significando “matriz” llamándosele así porque era utilizada para tratar a las dismenorreas.^{19,24}

2.2.2.2 Aspectos taxonómicos

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GÉNERO: *Matricaria*

ESPECIE: *Matricaria chamomilla* L.

Nombre vulgar: “manzanilla”

Fuente: Museo de Historia Natural (ver anexo 2)

2.2.2.3 Descripción botánica

Esta hierba tiene grandes propiedades medicamentosas, perteneciente a la familia de las Asteraceae. Tiene una fuente rica en sustancias orgánicas, así como en propiedades farmacoterapéuticas. Se desarrolla en todos los suelos basta con mínima humedad, es de raíces delgadas.²⁵

Sus ramas redondas y erectas, tallos que alcanzan hasta 70 cm de altura. Las hojas son fijas, dividida en segmentos muy finos y filiformes. En la cúspide, presenta inflorescencia donde se encuentran las flores radiales son entre 12 a 20, con la lígula o apéndice membranoso blanco que cuelga de acuerdo a su maduración y flósculos amarillos pentalobulados en un receptáculo cónico.^{19,26, 27}

Se ha detectado más de 120 constituyentes químicos en la flor como metabolitos secundarios, que incluyen 28 terpenoides, 36 flavonoides, y 52 compuestos adicionales con actividad farmacológica potencial. Los componentes, como el α -bisabolol y los éteres cíclicos, son antimicrobianos, y la umbeliferona es fungistática, mientras que el chamazulene y el α -bisabolol son antisépticos. Se encontró que la manzanilla tenía la actividad antileishmanial más efectiva.²⁵

2.2.2.4 En fitoquímica

Contiene importantes aceites esenciales, entre ellos camazuleno, matricina y azuleno o azuléina; sesquiterpenos cíclicos como óxidos de alfa-bisabolol y de alfa-bisabolona; cumarinas como umbeliferona, herniarina y camilina; glucósidos proveniente del apigenol acentuándose el cosmosiósido, del luteolol se remarca el luteolósido, y del quercetol la quercetomeritrósido y flavonoides diversos como los derivados de la apigenina, del quercetol, de la luteolina; fitosteroles, principios amargos como el ácido anthémico, mucílagos, taninos destacando los tanatos, malatos y alcaloide principalmente la anthemidina.²⁸

En la hierba de manzanilla se encuentran mucílagos del tipo galacturónico, cumarinas del tipo umbeliferona y herniarina, ácidos fenólicos y lactonas

sesquiterpénicas, esta planta comprende enino dicitloéterespiroonónicos compuesta de políinos cíclicos además de aceite esencial y flavonoides.²⁶

El aceite esencial, es un componente muy notable, esta sustancia se encuentra en las cabezas de las flores de la hierba de manzanilla, es lipofílico. Más del 50 por ciento del total de la esencia se compone de la siguiente manera:²⁹

- **Azulenos:** entre 26 y 46 por ciento, esencialmente camazuleno entre 6 y 15 por ciento, en menor medida guajazuleno. Contiene aceite muy volátil esto asigna el color azul a la esencia, se presenta por actividad del calor en el transcurso de la extracción. Es la razón de la no presencia en las infusiones tradicionales. El camazuleno no forma parte de la esencia sino que proviene a partir de la, saponificación, deshidratación y descarboxilación del proazuleno esta sustancia es incoloro y soluble en agua se le conoce como matricina, la cual se refiere a una lactona sesquiterpénica de los guayanólidos.²⁹

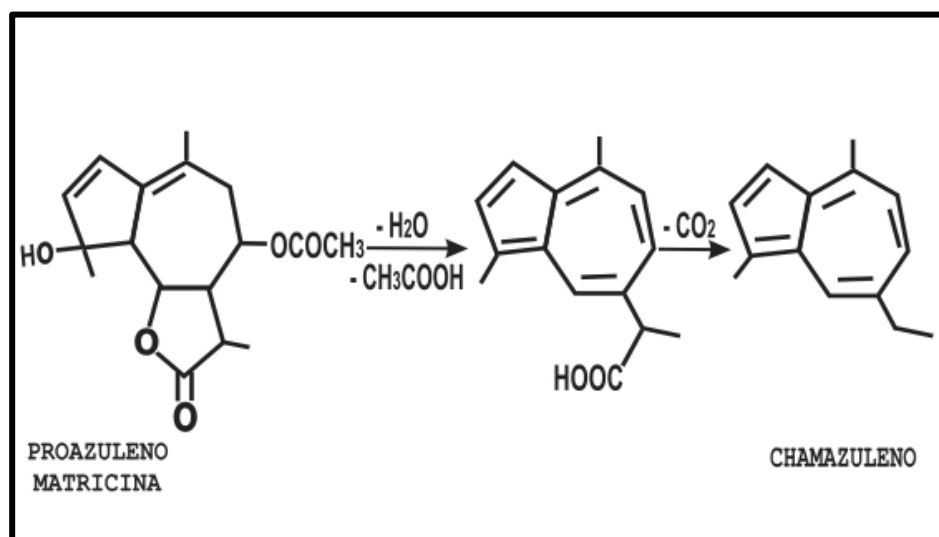


Figura N°1: Nacimiento del camazuleno a partir de la hidrodestilación (Bruneton, 2001)³⁰

- **Sesquiterpenos:** como el α -bisabolol en un 10 a 25% y derivados igual que bisabolóxidos A, B y C, también destacan trazas de antecotúlido.²⁹

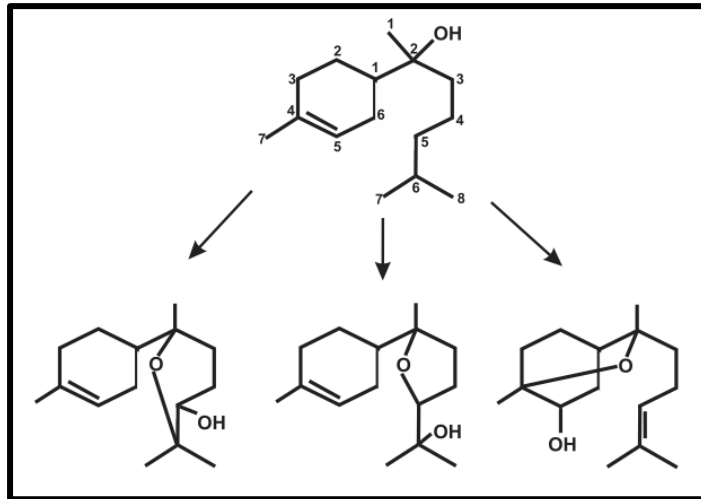


Figura N°2: (-)- α -bisabolol y derivados. (Bruneton, 2001)³⁰

- **Lactonas sesquiterpénicas:** Destacan la matricina, matricarina y desacetil matricarina. La sustancia matricina podría ser precursor del camazuleno.
- **Carburos terpénicos:** Sustancias como el farneseno, cadineno, cis-espiroéter y trans-espiroéter.
- **Flavonoides:** Aproximadamente entre 1 al 3 por ciento forman parte junto a mucílagos hidrofílicos de la droga. Destacan además gran cantidad de flavonas y flavonoles metoxilados, así como la apigenina y quercetina, y respectivos glucósidos (7-glucosil-apigenina, 7-glucosil-quercetina). Además, luteolina, patuletina, lisorhamnetol, apíina, etc, de los mencionados destacan:³⁰

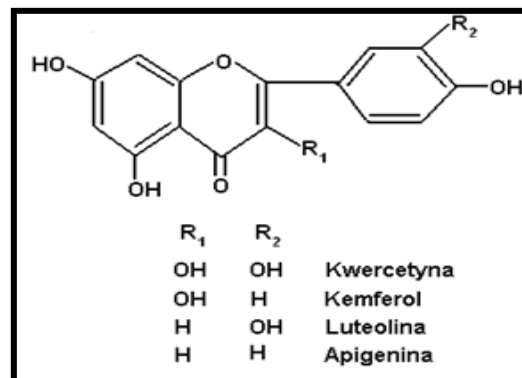


Figura N°3: Flavonoides en gran cantidad. (Bruneton, 2001)³⁰

La apigenina: sustancia de naturaleza, presente en gran parte de los vegetales, como el perejil, la cebolla, el apio, el té o la manzanilla. También está presente en el vino tinto y en la cerveza. La apigenina está reconocida como un flavonoide bioactivo que posee propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antialérgico, anticancerosa entre otras.³⁰

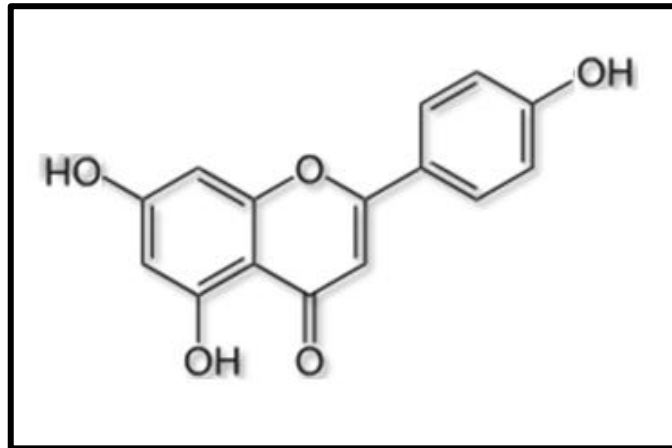


Figura N°4: Apigenina (Bruneton, 2001)³⁰

Propiedades de la apigenina:

Sustancia que tiene propiedades constituyentes antimutagénico natural y antiinflamatoria.³⁰

La apigenina tiene cantidad de propiedades de actividad a nivel vascular, esto posibilita la reducción de fragilidad capilar sanguínea acondicionando la matriz dérmica que mantiene la red de capilaridad, esta acción inhibe las sustancias colagenasa y metaloproteinasa. Como antioxidante, tiene potencial inhibidor sobre la lipooxigenasa, por tanto reduce la peroxidación causada por lípidos.³⁰

La quercetina: Es una sustancia derivado del flavonol está presente constantemente como O-glucósidos y difícilmente como C-glucósidos, en elevadas concentraciones en frutas, verduras y hierbas. Es el flavonoide mayoritariamente abundante, destaca su gran actividad antioxidante.³⁰

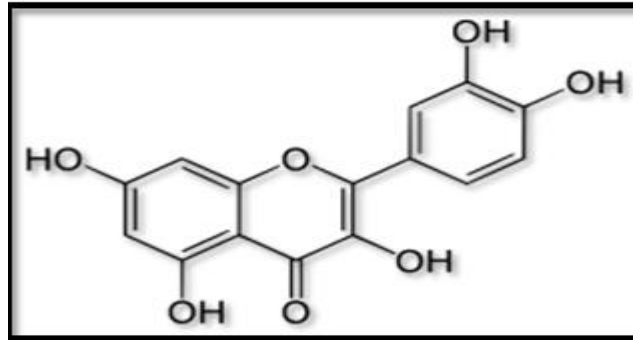


Figura N°5: Quercetina. (Bruneton, 2001)³⁰

Propiedades de la quercetina:

Presenta interesantes propiedades, destacan los analgésicos, antiagregantes, vasodilatadoras, antiartríticas, antibacterianas, antiherpéticas, antiinflamatorias, antigripales, antiespasmódicas, antiulcerosas, hepatoprotectoras, antidiabéticas, antiasmáticas, entre otras.³⁰

- **Cumarinas:** Estas sustancias provienen de la dirección del ácido shikímico, estudios describen en la manzanilla se encuentran dioxicumarina, umbeliferona y herniarina.
- **Otras sustancias de interés:** Ácido valeriánico, taninos, ácido ascórbico, ácidos grasos, mucílagos urónicos 10 por ciento, ácido salicílico, esteroides derivados del estigmasterol, ácidos fenólicos, ácido angélico, mucopolisacáridos, principio amargo (ácido antémico), xiloglucuranos, sales minerales entre 8 a 10 por ciento, triacontano y resinas (fitosterina).

2.2.2.5 Principios activos y propiedades

Compuestos de farneseno, spathulenol (alcohol sesquiterpénico cíclico), procamazufen, α -bisabolol, α -bisabololoxide y α -bisabolonoxide. Estos contenidos en las inflorescencias de la manzanilla, podrían ser hidrosolubles o liposolubles, los segundos presentes en aceites esenciales. En infusiones es liberado un diez a 15 por ciento del contenido total de las sustancias activas. En las flores secas, la esencia aceitosa se encuentra entre 0.4 a uno por ciento. El color azulado manifiesta presencia de sesquiterpenos como el

azuleno, de efectividad antiinflamatoria esta sustancia se encuentra de uno a un 18 por ciento, la variedad del cultivo predispone la cantidad de azuleno en los aceites. Los procesos oxidativos está mediado por α -bisabolol, esta, ingresa dentro de la planta buscando formar alcoholes secundarios los óxidos de bisabolol; Las geninas azufradas son los glucósidos sulfurados, estas sustancias tienen propiedades antibióticas para ello es importante el tiempo de maceración aproximadamente 10 minutos en agua tibia, siendo que sólo de esta maneja una genina es aislada haciéndose activa.³¹

2.2.3 La cicatrización de heridas

En una lesión que presente heridas, se activan los mecanismos de cicatrización natural o normal de dicha herida a menos que se complique e intervengan las contaminaciones o la desvigorización de los tejidos, la técnica usada de reparación celular inadecuada, además de circunstancias subyacentes como diabetes o medicación inhibe la cicatrización normal. Todos los mecanismos de cicatrización así como la inflamación, angiogenia, epitelización, crecimiento fibroblástico y remodelación de la cicatriz están controlados por mediadores específicos que provienen de las plaquetas, macrófagos y linfocitos. Los mediadores, como los factores de crecimiento están siendo usados con intención terapéutica en heridas crónicas. La cicatrización de heridas en general se avizora como hechos y fenómenos independientes, sin embargo se trata de continuas fases solapadas:³²

2.2.3.1 La hemostasia una respuesta rápida a la lesión

Al presentarse una lesión en paralelo se describen mecanismos fisiológicos que posibilitan la hemostasia rápida. La agresión es un trauma que provoca cambios en el diseño de la piel estos inducen a la retracción a nivel de los bordes donde se está produciendo la herida además de contracción de los tejidos tisulares, a su vez ocasionando la compresión de vénulas así como arteriolas pequeñas. También los vasos presentan vasoconstricción refleja de mediana intensidad (algunos minutos). La agregación de las plaquetas inicia en la luz de vasos lesionados así como en lugares de exposición externa de la herida. La iniciación del factor tisular de coágulos pone en

alerta la cascada de coagulación entonces al instante la herida manifiesta coágulos. Una vez realizada la hemostasia (coagulación), se liberan aminas vasoactivas, estas producen la dilatación capilar no lesionados, con ello se da inicio a la exudación cerca a la herida.³²

2.2.3.2 La fase de inflamación

Luego de la coagulación y exudación, existe la respuesta inmediata de la inflamación; una activa presencia del sistema de complemento además de liberación de mecanismos factores quimiotácticos atrayentes de granulocitos a la zona circundante de la herida, este proceso celular va seguida rápidamente de linfocitos. La maximización de granulocitos se da entre las 12 a 24 horas del inicio traumático de la herida. Principalmente el funcionamiento de los granulocitos y linfocitos podría ser la de controlar la proliferación bacteriana y posterior eliminación de posible infección. Es importante añadir que el sistema de complementos celulares es ayudado por inmunoglobulinas presentes en el exudado cercano a la herida. Dependiendo del tipo de heridas el conteo de granulocitos disminuye pasando 3 días.³²

La presencia de células inflamatorias tiene una función exclusiva en las respuestas y en la formación inicial de fibroblastos y colágeno. Al parecer los macrófagos son necesarios ya que estimulan el cúmulo de fibroblastos y la nueva vascularización.³²

2.2.3.3 Regeneración epitelial

Cuando se da lugar a la respuesta inflamatoria, también en el epitelio celular del manto germinativo o yacimiento basal de la epidermis inician cambios morfológicos y funcionales. Al promedio de 12 horas las células ilesas que rodean la herida realizan la transformación estructural semejante a pseudópodos esto facilita la movilidad celular, activando la replicación con desplazamiento sobre la faz de la herida. Entonces se capta una capa que avanza sobre la dermis maltrecha pero estable gracias al coágulo hemostático. La rápida y constante replicación finalmente restablece las capas de la epidermis en su totalidad.³²

2.2.3.4 Aparición de nuevos vasos sanguíneos

El proceso y fomento de nuevos vasos sanguíneos es vital sin ello la reparación de la herida no sería posible. La aparición de nuevos vasos traerán oxigenación y nutrientes a la zona cercana a la herida encontrándose en proceso de cicatrización. Esta nueva vascularización o angiogénesis a partir de los ya existentes se evidencia a partir del tercer día y es más activa hacia el 7mo día, tiene significancia en la forma eritematosa (enrojecimiento de la piel) de la herida evaluados en la retirada de la sutura. La vascularización nueva disminuye rápidamente aproximadamente a los 21 días. La formación de asas de capilares es propia de los vasos nuevos rodeados por fibroblastos en continua actividad de crecimiento. Estos elementos en la faz de la herida son responsables de la granulación de los tejidos en heridas abiertas por cicatrización en segunda intención.²⁷

2.2.3.5 Condensación del colágeno

La vascularización nueva mantiene el suministro de sangre ello procura estimular a los macrófagos, en paralelo las células fibroblásticas dan inicio a la mitosis, esta producción resulta en nuevas fibrillas de colágeno al segundo día. La síntesis o condensación máxima de colágeno se fabrica entre los días 5 al 7, para la tercera semana la herida presenta una masa grande de esta sustancia. Esta síntesis de colágeno se deposita con un modelado aleatorio y sin forma adecuada, con escasa resistencia a la fuerza. En el tiempo este colágeno en forma de gel continúa renovándose por sí solo, adaptándose a nuevas formas de organización como en canastilla trenzada consiguiendo el entrecruzamiento de las fibrillas de colágeno, esto es necesario sin un exceso del gel de lo contrario se produce lisis de colágeno. La actividad de la hidrólisis y la colagenasa degradan el colágeno antiguo y maltrecho, siendo ingeridos por los macrófagos a su vez se reemplaza por nuevo colágeno. Este equilibrio entre síntesis y lisis se da en un periodo de fragilidad de siete a 10 días luego de la lesión. La presión a la fuerza final alcanza luego de varios meses.²⁷

2.2.3.6 Reducción y remodelación de la herida

En general las heridas presentan remodelación constante de la cicatrización en periodos de meses. La forma de modelación estará acompañada de un fenómeno de contracción de la lesión. La herida en formación se contrae gradualmente buscando siempre el centro desde los bordes accionado por los fibroblastos especializados llamados miofibroblastos. La reducción centrípeta tira de la piel sana circundante sobre la cicatriz. Las manifestaciones biológicas de tensión cutánea, remodelación de la herida y región corporal equivale a factores importantes aquellos determinan el proceso y aspecto al final de la cicatrización. Es necesario saber sobre el aspecto definitivo este se logra a los seis meses en otros casos un año. Sólo así podríamos valorar la revisión de la cicatriz.²⁷

2.2.3.7 Terapia y evaluación de la cicatriz

La terapéutica en heridas de por sí ya es un trauma, evaluarla en algunas oportunidades termina con un desagrado llegando a ser inaceptable para el paciente. Cuando se produce la herida es recomendable identificar pacientes con antecedentes de formación de queloides o de cicatriz hipertrófica, con ellos se deben tomar medidas luego de la reparación inicial las técnicas con eficacia demostrada son la terapia láser, apósitos de presión y corticoides intralesionales.²⁷

2.2.3.8 Tipos de cicatrización

2.2.3.8.1 Cierre primario (intención primaria)

Este método es aconsejable en las lesiones relativamente limpias con poca contaminación y mínima pérdida tisular, estas heridas generalmente son causadas por fuerzas de corte. Para el cierre primario se usan suturas, cintas adhesivas o grapas, la compostura de este tipo de heridas es eficaz siempre que se logre dentro de las seis a ocho horas desde la lesión. Dependiendo de la zona corporal, grado de contaminación y desvitalización tisular puede variar hasta las 24 horas. La infección en la mano o el pie aumenta el riesgo significativamente después de cuatro a

seis horas. La aplicación médica de este método, cortes faciales o complicados puede variar de hasta 24 a 36 horas luego de presentarse la herida.²⁷

2.2.3.8.2 Cierre secundario (intención secundaria)

Este tipo de lesiones no cierran con suturas, los bordes se encuentran muy separados tienen pérdida tisular, pueden ser, úlceras cutáneas, cavidades de abscesos, punciones, mordeduras de animales pequeñas sin relevancia estética y abrasiones de grosor parcial, mantienen la base dérmica, cicatrizan mejor por segunda intención. Requieren de la granulación para cicatrizar y finalmente reepitelización. Luego de una asistencia apropiada del tratamiento sobre la lesión, podrían ser candidatas a cobertura cutánea diferida, inclusive, uso de injerto, estas heridas manifiestan respuesta inflamatoria pronunciada, son propensas a una reducción significativa de la herida.²⁷

2.2.3.8.3 Cierre terciario

Este tipo de heridas son candidatas al cierre luego de la limpieza, desbridamiento y evaluación constante entre cuatro a cinco días. Tratándose de heridas demasiado contaminadas no pudiendo cerrarse en primera intención, pero no presentan pérdida o desvitalización tisular pronunciada. Estas heridas suelen ser viejas, con contaminación excesiva por descuido, saliva o secreciones vaginales, causadas por mordedura animal o humana o como consecuencia de disparos como las balas.²⁷

2.2.4 Los geles

Estas mezclas son sistemas coloidales transparentes, de estructura continua presentan principio activo y excipientes que les confiere características de semisólidos. El sistema contiene gran cantidad de líquido y gelificantes, que confiere propiedad gelificadora estos pueden incorporarse disueltas o no. Tienen la ventaja de tolerancia al ser aplicados, son refrescantes y fácilmente lavables. Presentan posible tendencia a la desecación además son incompatibles con muchos principios activos.³³

2.2.4.1 Tipos de geles

La variedad de geles es amplia, dependiendo de su criterio se podrían clasificar incluso por tipo de gel. Por su comportamiento funcional frente al agua existen dos tipos: hidrófobos o lipogeles e hidrófilos o hidrogeles.³³

2.2.4.2 Geles con afinidad a la grasa (lipogeles)

Estas sustancias gelificadas son de utilidad en tratamiento de dermatitis crónicas por su propiedad emoliente y lubricante, farmacológicamente son inertes, pero podrían ocasionar reacciones alérgicas. Por el tipo de mezcla permite mayor contacto en el tiempo sobre la zona a aplicar, es excelente para formulaciones de elaboración oftálmicas al aumentar el tiempo de permanencia en la superficie del ojo. La inactividad química los hace aptos para la elaboración de principios activos inestables.³³

2.2.4.3 Geles de afinidad al agua (hidrogeles)

Sustancias con afinidad al agua encargado de la solubilidad de los demás compuestos o sustancias que forman el gel las cuales pueden llevar sustancias activas, así como el glicerol, polietilenglicol entre otras sustancias de afinidad al agua produciendo un compuesto de naturaleza a un gel adecuado.³³

De naturaleza inorgánica y orgánica para elaboración de gel.³³

- Dióxido de silicio: sustancia inorgánica coloidal de forma esférica
- Bentonita: no tiene afinidad al agua, en forma de láminas con capacidad de absorción y gelificante, grado de pureza del 15 al 20%.
- Carbomero: de naturaleza carboxilo con características hidrofílica dando viscosidad al compuesto formado.
- Glicerina: sustancia orgánica inhibidor de modificaciones de origen enzimático de preparados galénicos beneficiando a la piel.
- Metilparabeno: conservante orgánico muy utilizado en la industria.
- Trietanolamina: de naturaleza orgánica se comporta como una base débil, tiene la función de controlar el pH.

2.2.4.4 Geles con sustancias orgánicas

De origen gelificantes orgánico, utilizan macromoléculas como los carbohidratos, presentan un alto peso molecular de origen vegetal como el alginato sódico, tragacanto, acacia, donde se obtiene compuestos como geles o mucílagos la cuales conforman un excelente medio para el cultivo de origen microbiano, presenta una desventaja al poseer la capacidad de modificar la función de medicamentos, es por ello ha ganado terreno producto semisintético y sintéticos. Entre los principales compuestos orgánicos tenemos a los derivados del ácido poliacrílico y la celulosa.³³

2.2.4.5 Efecto

Sensación o impacto reflejado por una causa, de acción rápida o lenta, que va a originar cambios en cuerpos subyacentes de forma positiva o negativa, como, efectos sistémicos, tóxicos, antimicrobiano, prolongado, adversos, entre otros.³³

2.3 Hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

El gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) tiene efecto cicatrizante en ratones albinos.

2.3.2 Hipótesis específica

- 1.- Los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) tienen un potencial efecto cicatrizante en ratones albinos.
- 2.- La mayor concentración del gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) tiene mejor efecto cicatrizante en ratones albinos.
- 3.- El gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) tiene mayor efecto cicatrizante respecto al cicatricure en ratones albinos.

2.4 Variables

2.4.1 Operacionalización de Variables

Tabla N°1: Operacionalización de Variables

Efecto cicatrizante tópico del gel elaborado con el extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) en ratones albinos		
VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES
Variable Independiente		
Gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla)	Escala de concentración del gel	<ul style="list-style-type: none">• Extracto etanólico.• Metabolitos secundarios.
Variable Dependiente		
Efecto cicatrizante	Fuerza de tensión	<ul style="list-style-type: none">• Cicatrización de la herida• Resistencia de la cicatrización

Fuente: Elaboración propia

2.5 Marco conceptual

1. **Biohuerto:** Extensión de terreno donde se cultivan con técnicas de agricultura biológica, orgánica y ecológica.³¹
2. **Bisturí:** También llamado escarpelo, cuchilla de cirujano para pequeñas incisiones muy usadas en el área de salud.³³

3. **Cicatrizar:** Conjunto de procesos a nivel celular que tienen la finalidad de realizar la recuperación del tejido lesionado.⁷
4. **Cicatricure:** Producto fabricado por la empresa Genomma Lab Brasil, para mejorar el aspecto de la piel y cicatrices.
5. **Compuestos orgánicos:** Sustancias de origen químico obtenidos de productos vegetales que poseen sustancias denominados sustancias no esenciales, que no produce su deficiencia una alteración para el organismo.¹⁴
6. **Extracto:** Compuesto que presenta un grado de concentración elevada que se obtiene a partir de un producto vegetal, ramas hojas, flores en donde se aplican diversos procesos.³²
7. **Fitoterapia:** Rama de estudio que investiga sustancias de origen vegetal las cuales su desarrollo se van a utilizar en el campo terapéutico.²⁰
8. **Herida:** Disgregación de la piel producida por factores externos que pueden ser por golpes o rasguños o instrumentos cortantes.³⁴
9. **Incisiones:** Laceración producida en una estructura o tejido utilizando un elemento punzocortante o afilado.³²
10. **Proceso de Hemostasia:** Detener un sangrado mediante procesos de la fisiología del ser humano, por contención o por reacciones de instrumentación quirúrgica y químicamente.⁷
11. **Estabilidad:** Atributo de un cuerpo para preservar el equilibrio estable a temperatura, cambios de pH, agitación violenta, o de retornar a su estado natural luego de una perturbación.³³

CAPÍTULO III: MÉTODO

3.1 Tipo de Estudio

Investigación básica, porque lleva a la búsqueda de nuevos conocimientos. El propósito es recoger información para enriquecer el conocimiento científico.³⁵

Nivel: Explicativo, está orientado a buscar un nivel de explicación científica que a su vez permita la predicción.³⁵

3.2 Diseño a Utilizar

Experimental, porque se aplica, observa y mide el efecto cicatrizante del gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) en ratones albinos.

Tabla N°2: De la metodología de estudio

Nombre del grupo	Estudio histológico	Tratamiento	Vía de aplicación	Número de animales
G I - Blanco	SI	No	Ninguno	5
G II – C. Negativo	SI	Gel base	Tópico	5
G III - GEEFMC 10%	SI	GEEFMC 10%	Tópico	5
G IV - GEEFMC 15%	SI	GEEFMC 15%	Tópico	5
G V – GEEFMC 20%	SI	GEEFMC 20%	Tópico	5
G VI – C. Positivo	SI	Cicatricure®	Tópico	5
			Total	30
Leyenda: Grupo I: G I Grupo II: G II Grupo III: G III Grupo IV: G IV Grupo V: G V Grupo VI: G VI Control negativo: C. Negativo Control positivo: C. Positivo Gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla): GEEFMC				

Fuente: Elaboración propia.

Efecto cicatrizante tópico del gel elaborado con extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L (manzanilla) en ratones albinos.

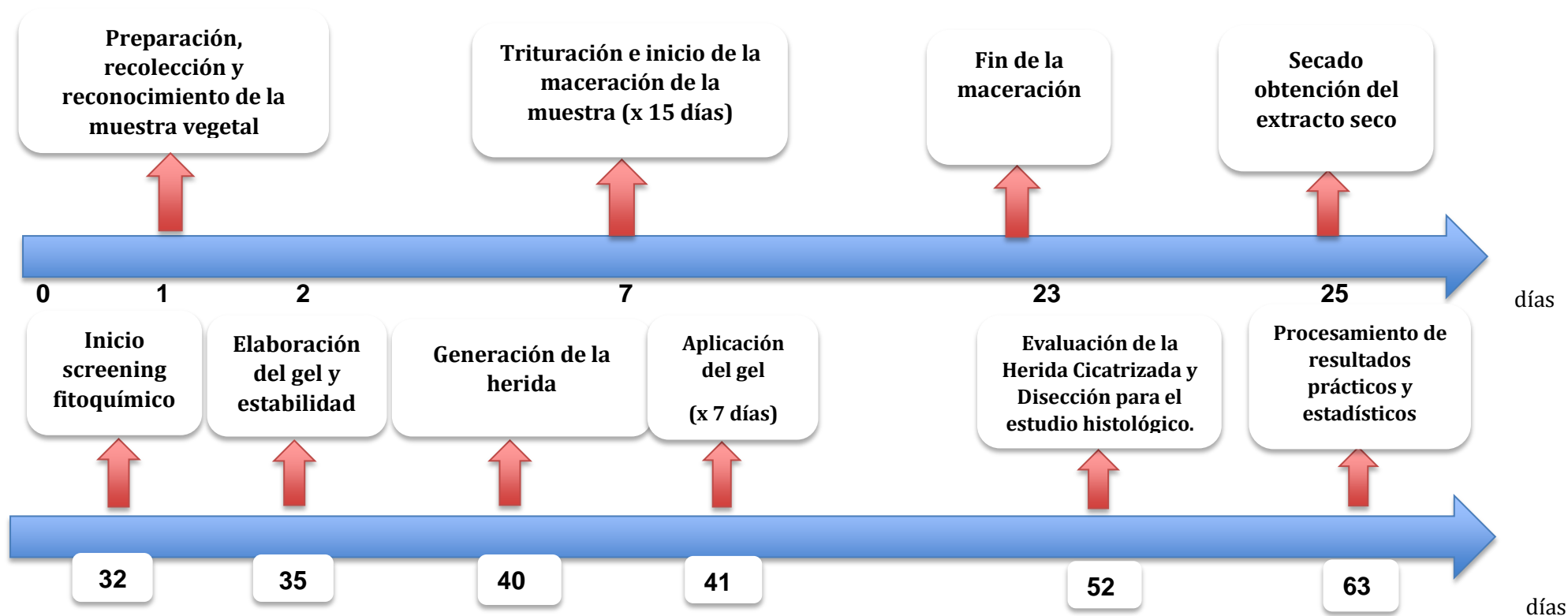


Figura N°6: Esquema de línea de tiempo de los experimentos

Fuente: Elaboración realizada por los investigadores.

3.3 Población

La *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla), recolectado del biohuerto Santa Rosa (huertos en línea dos) del distrito de Villa María del Triunfo (VMT) al sur de Lima.

Ratones albinos, cepa BALB/c tratados en las instalaciones del bioterio de la UNMSM.

3.4 Muestra

Ocho kilos de la planta *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) se usó para el estudio sólo las flores.

30 ratones albinos de entre 4 a 5 meses de edad.

3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se llevó a cabo por medio de la observación y anotación de manera escrita, se anotaran cada uno de los procesos realizado y obtener el resultado final de manera cuantitativa, también se utiliza figuras fotográficas las cuales plasman las secuencias del estudio. Sera necesario el apoyo de instrumentos como el dinamómetro para poder verificar y comprobar la tensión de la resistencia en el cierre de la herida cicatrizada.

3.5.1 Instrumento

Ficha de datos: se anotan los resultados del estudio, también puede ser una lista de chequeo.

Dinamómetro: instrumento de medición cuantitativa, necesario para medir fuerza de tensión en gramos del cierre de cicatrización de la herida.

Observación: de manera sistémica se lleva a un registro, se observan características, conductas o comportamientos, se observa los fenómenos tal cual.

3.5.2 Equipos, Materiales y Reactivos

3.5.2.1 Equipos

Tabla N°3: Equipos necesarios para la investigación

N°	EQUIPO	CARACTERÍSTICAS
1	Rota vapor	Separación y purificación de solutos (eliminación de alcohol-agua macerado)
2	Estufa	Secado de la muestra, eliminación de agua.
3	Micrómetro digital	Control de los tiempos de concentración
4	Campana de extracción	Evacuar aire con niveles peligrosos de contaminantes
5	Plancha de calentamiento	Evaporar el solvente CCF.
6	Equipo de seguridad	Implementos de protección
7	Balanza analítica	Medición del peso de las hojas secas
8	Balanza (gramos)	Medición de los animales de experimentación
9	Cocinilla eléctrica	Screening fitoquímico
10	Equipo de depilación	Para esterilizar al animal y se puedan inducir a la herida
11	Dinamómetro	Medición del porcentaje de cicatrización
12	Equipo de disección.	Extracción de piel cicatrizada para el examen epitelial.
13	Mechero Bunsen	Calentamiento de las muestras para realizar el screening fitoquímico.

Fuente: elaborado por los investigadores.

3.5.3.2 Materiales

Tabla N°4: Materiales de vidrio y otros instrumentos

N°	MATERIALES	USOS
1	Tubos de ensayo	Preparación del screen fitoquímico
2	Papel kraft	Mantenimiento y protección de la muestra
3	Pizeta	Agua destilada y enjuague de instrumentos
4	Matraz Erlenmeyer	Preparación de diluciones y concentraciones
5	Tijeras de jardinería	Reducción de la muestra
6	Fuentes de vidrio	Secado de la muestra
7	Fiolas de 50 mL	Preparación de concentración
8	Vaso de precipitados	Calentamiento de tubos de ensayo
9	Embudo de vidrio	Para poder realizar la filtración
10	Frasco ámbar	Maceración de las muestras
11	Pipetas	Extracción del extracto hidroalcohólico
12	Frascos 30 mL	Para conservar el producto elaborado
13	Navajas	Cortar la muestra y papel
14	Frascos estériles	Conservación de las muestras y diluciones
15	Baguetas	Solubilidad de la muestra
16	Tijeras de disección	Extracción de muestras

Fuente: Elaborado por los investigadores.

3.5.3.3 Reactivos:

Tabla N°5: Insumos necesarios para la marcha fitoquímica

N°	REACTIVOS USADOS	METABOLITOS
1	Reactivo de Dragendorff, Wagner, Mayer, Scheibler, Sonneschein, Reineckato y Shinoda	Alcaloides
2	Cloruro férrico 1%	Taninos
3	Reactivo de Gelatina	Compuestos fenólicos
4	Reactivo de Bortranger	Antraquinonas
5	NaOH 5%	Quinonas
6	RX de Ninhidrina	Aminoácidos libre
7	Reactivo de Lugol	Almidón
8	RX de Fehling A y B	Azúcares reductores
9	RX Benedict	Identificación de Glúcidos
10	Alcohol de 96°, Alcohol isopropílico, Metanol, Etanol y Cloroformo	Solubilidad
11	Agua destilada	Solubilidad/ Saponinas
12	Reactivo 2,4 DNPH	Identificación de cetonas
13	Hidróxido de sodio al 10%	Cumarinas
14	Ácido sulfúrico 2N	Leucoantocianidinas

Fuente: elaborado por los investigadores

3.6 Procesamiento de datos

Se calculará la concentración del gel elaborado por los investigadores y se comparará con el control positivo. Todas estas concentraciones se usaran en heridas inducidas en ratones albinos en grupos previamente establecidos, se observa la cicatrización, se usara el instrumento dinamómetro para medir el cierre de la cicatriz y se anotan los resultados. Todos los datos cuantitativos se llevan a programa estadístico Prisma GraphPad versión 7 que permite obtener referencias y cálculos. Se realizará ANOVA y prueba de Tukey para determinar el p=valor, así valorar la significancia de la investigación.

3.6.1 Procedimiento Experimental

3.6.1.1 Recolección de la planta

Se recolectó el mes de noviembre del 2018 en el biohuerto municipal número dos del distrito de Villa María del Triunfo, de esta planta se utilizó las flores.

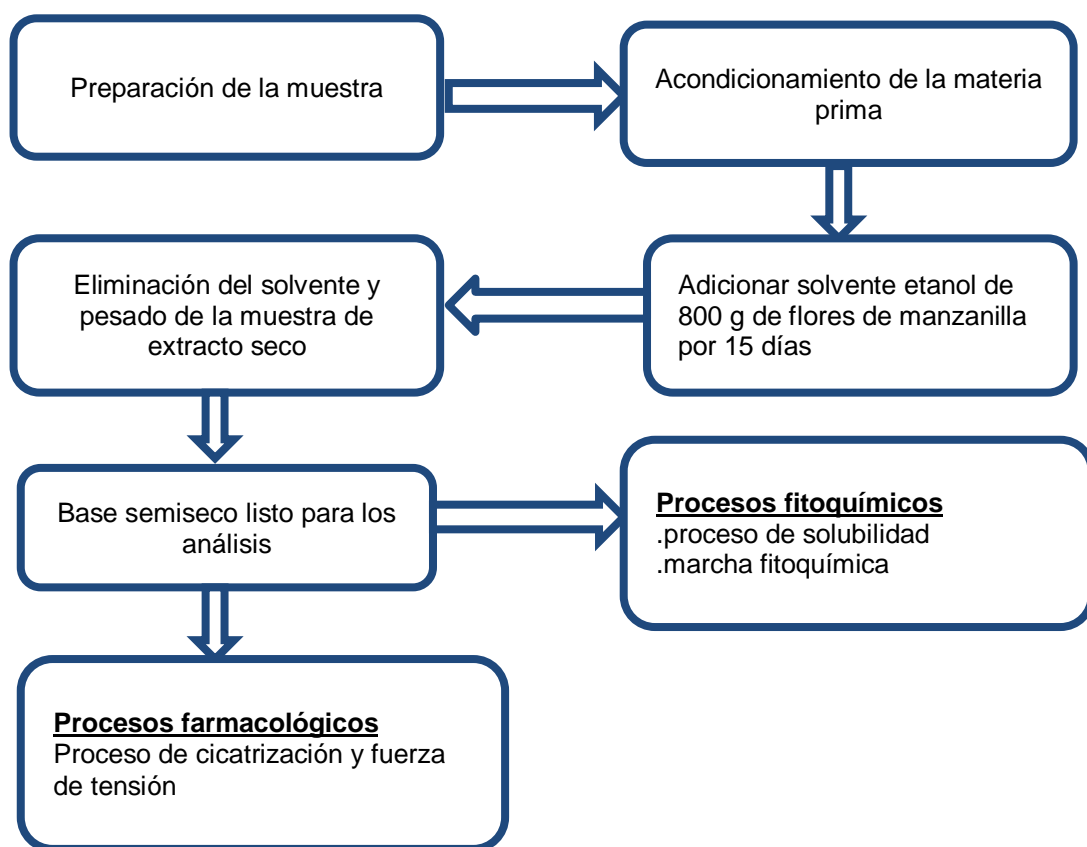
3.6.1.2 Macerado y obtención de la muestra seca de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla)

Se procedió a lavar la muestra recogida, a flujo suave y constante de rocío de agua, se llevó a un ambiente adecuado para secado de forma natural, luego se procedió a separar las flores del resto de la hierba, esta separación se pesó para calcular la cantidad de material extraído se envolvió en papel kraft dejando secar a la sombra hasta por cinco días.

Cuando estuvo seco se procedió a triturar de forma manual con la ayuda de una tijera y mortero con maso, obteniendo una cantidad deseada, de 800g del material triturado, este producto se dividió en frascos herméticamente sellados de color ámbar cada uno con capacidad de un litro y se agregó alcohol de 96° hasta por encima de la muestra contenida.

El tiempo de maceración fue de 15 días con agitación constante dos veces por día, una en la mañana y otra por la tarde/noche. Concluido el tiempo de la maceración se procedió con la filtración, con la ayuda del papel filtro,

embudo de vidrio y un recipiente adecuado para producir la separación de contaminantes e impurezas del concentrado o macerado es así que se obtuvo 1,600ml, luego se usó una cocinilla para eliminar el solvente a temperatura de 40 grados Celsius, hasta evaporación en un porcentaje adecuado se obtuvo un material crudo viscoso, de los cuales se dividió en dos el primero se usó para el screen fitoquímico y la otra parte se llevó a una fuente de vidrio para calentar en una estufa a temperatura adecuada y eliminación definitiva del solvente, obteniendo un polvo seco total 16,5 gramos, se llevó a frascos estériles para mantener su estabilidad y conservación para su posterior uso en la preparación del gel.



Fuente: Elaboración propia

Figura N°7: Esquema de flujo de la materia prima.

3.6.1.3 Marcha fitoquímica

Para todas las pruebas de la marcha fitoquímica se elaborarán tablas para registrar y mejor visualización de los datos.

3.6.1.3.1 Prueba de solubilidad extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L (manzanilla)

Se utilizó el método de referencia desarrollado en la técnica de prueba de solubilidad descrita por Deanna Marcano y Masahisa Hasegawa (2002). Para la prueba de solubilidad se tiene el material crudo viscoso de donde se coge 1 ml de la muestra para cada uno de los tubos de ensayo, luego agregar de 2 a 4 ml de los solventes descritos en la tabla para observar, comparar y determinar los resultados de la prueba.

Tabla N°6: Modelo de ficha marcha fitoquímica

Solventes	Extracto etanólico
Metanol	-----
Etanol	-----
Agua	-----
Alcohol isopropílico	-----
Cloroformo	-----
Éter etílico	-----
Acetonitrilo	-----

Fuente: elaboración propia.

3.6.1.3.2 Prueba de reconocimiento de metabolitos secundarios de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla)

Para esta prueba se agrega de 2 a 4 ml de la muestra a estudiar en tubos de ensayos rotulados, luego se agrega 10 gotas del reactivo en las cuales se observa una precipitación y/o una coloración manifiesta por los diferentes reactivos usados, se acomoda adecuadamente en gradillas metálicas para su observación anotando los resultados siguiendo el procedimiento descrito por Lock.³⁶

1. Identificación de alcaloides:

Procedimiento del reconocimiento de alcaloides: el producto de la maceración extrae sustancia o compuesto principal denominadas alcaloide, para comprobar se utilizaron 10 gotas de reactivo que se añaden a tubos de ensayo previamente rotulados conteniendo 4mg de la muestra, entre los reactivos tenemos principalmente:

Reactivo de Mayer: compuesto por yoduro de potasio y cloruro de mercurio, dará como resultado una precipitación de color blanca, crema poco amarillenta o algunas veces incolora.

Reactivo de Dragendorff: compuesto por yoduro de bismuto, da como resultado una precipitación de color anaranjado o pardo anaranjado.

Reactivo de Wagner: compuesto por yodo y de yoduro de potasio, da como resultado una precipitación de color marrón.

Reactivo de Scheibler: compuesto de ácido fosfotúngstico al 10% en agua en pH ácido gracias al ácido nítrico, da como resultado precipitación color blanco.

Reactivo de Sonneschein: compuesto por ácido fosfomolibdico solvente en agua y etanol, da como resultado precipitación color naranja.

Reactivo de Reineckato: compuesto por clorhidrato de hidroxilamina ligeramente acidificada con HCl, da como resultado precipitación floculenta de color rosado.

2. Identificación de flavonoides y complejos fenólicos

Estos compuestos presentan estructuras que son antraquinonas, naftaquinonas, se usan para reconocer taninos y este proceso sufre una actividad de condensación produce un flavonoide denominado antocianidinas y si sufre un proceso de hidrolización se forman ácidos de naturaleza fenólica. Para su identificación se mezcla en un tubo de ensayo previamente rotulado 4mg de la muestra y se añade 10 gotas de reactivo y observamos la reacción. Entre ellos tenemos:

Reactivo de Bortranger: identifica flavonoides, dará como resultado una precipitación de color roja.

Reactivo de Shinoda: compuesto por magnesio en limaduras y ácido clorhídrico, dará como resultado una precipitación de color roja a excepción de catequinas, isoflavonas, chalconas.

Reactivo de Gelatina: compuesto por cloruro de sodio y gelatina para identificar taninos, dará como resultado una precipitación de color blanco.

Reactivo de cloruro férrico: compuesto por cloruro férrico, dará como resultado una coloración verde, negra o azul.

3. Identificación de metabolitos primarios

Para la identificación de carbohidratos, especialmente azúcares reductores y glúcidos; se prepara 2mg de la muestra en tubos de ensayo previamente rotulados, entre estos reactivos tenemos:

Reactivo de Fehling A y B: Para la identificación de carbohidratos, se adiciona un mililitro de etanol y se agrega un mililitro de cada reactivo, la cual se procede a llevar a baño maría, obteniendo una reacción de manera positiva si da una precipitación ladrillo anaranjado.

Reactivo de Benedict: En la identificación de carbohidratos, en especial para la determinación de azúcares reductores, donde se adiciona un mililitro de reactivo a la muestra se observa un proceso de reducción si la reacción es positiva si da una precipitación ladrillo rojo-naranja.

Reactivo de Molish: identifica carbohidratos, especialmente determina glúcidos está compuesto de alfa naftol al cinco por ciento en donde se adiciona 1 ml de reactivo, y tres gotas de ácido sulfúrico, la reacción es positiva si da un resultado de una formación del anillo rojo-violeta ubicada en la interface.

4. Identificación de almidón

Reactivo de Lugol: identifica polisacáridos como almidón, se agrega a un tubo de ensayo conteniendo la muestra de tres a cinco gotas de reactivo, si presenta una coloración oscura quiere decir que la muestra es positiva.

5. Identificación de cetonas

Reactivo de 2,4 Dinitrofenilhidrazina (DNPH): identifica cetonas, se agrega 20 gotas de DNPH al tubo de ensayo conteniendo la muestra, si presenta una coloración o precipitado naranja o amarillo rojizo la prueba es positiva.

6. Identificación de proteínas y aminoácidos.

Identifica específicamente aminoácidos y proteínas reacciona agregando un mililitro de reactivo a un tubo de ensayo conteniendo un mililitro de la muestra. Entre los reactivos tenemos:

Reactivo de Ninhidrina: El procedimiento consiste luego de agregado la mezcla en calentar a baño maría por 10 minutos la reacción dará un precipitado color violeta o azul, o una precipitación de color amarillo presencia de prolina.

Reactivo de Millón: Una mezcla de mercurio en una solución de ácido nítrico, el procedimiento es calentar a baño maría por 10 minutos hasta ebullición, la cual reacciona con los grupos de aminoácidos fenólicos entre ellos la tirosina dando un precipitado color rojo, o coloración roja presencia de aminoácidos.

Reactivo Xantoproteica: mezcla de ácido nítrico concentrado, el procedimiento consiste a llevar a 30° en baño maría hasta observar el cambio de coloración, la cual reacciona con los grupos de aminoácidos aromáticos entre ellos la tirosina dando un precipitado color amarillo.

Reactivo acetato de plomo: para aminoácidos de naturaleza azufrada como cisteína y metionina, se agrega 20 gotas de acetato de plomo a la muestra, es positiva si al calentar presenta precipitado de color negro.

Reactivo de Biuret: identifica proteínas, combinación de sulfato cúprico, hidróxido de potasio y tartrato de sodio, la reacción es positiva si vira a color violeta.

3.6.1.3.3 Procedimiento para elaboración del gel

En la elaboración del gel usamos el porcentaje como unidad de medida, presenta los siguientes excipientes:

Tabla N°7: Excipientes para elaboración del gel.

Elaboración del gel	
Nombres de los excipientes	Porcentaje en cantidades
Propilenglicol	5%
Trietanolamina	0.2%
Carbopol	1%
Agua destilada c.s.p.	100ml

Fuente: Elaboración propia.

Procedimiento operativo:

La preparación del gel: en un beacker se agrega el carbopol y luego se agrega agua destilada a 45°C (puede ser en una plancha de calentamiento), dando movimientos giratorios de manera constante con una bagueta, ya diluido se agrega el propilenglicol y trietanolamina luego de una mezcla uniforme se deja entre 12 y 24 horas bien protegido de la luz y el medio ambiente para que tome consistencia, produciendo un gel de calidad necesaria.

Mezcla del extracto en polvo con el gel: se prepara el extracto en polvo y los frascos a medida (30 gramos) en proporciones de 10%, 15% y 20% del extracto que en unidades internacionales es equivalente en gramos de principio activo. Luego de pesar el extracto en polvo y el gel conteniendo los excipientes se mezclan en un Becker con la ayuda de una bagueta añadiendo unas gotas de alcohol para su uniformidad y la positiva elaboración del producto final, se llenan los envases ya rotulados y se almacenan protegidos de la luz y humedad.

Calculando con la regla de 3 simple conseguimos los siguientes resultados para el extracto en polvo:

Tabla N°8: Extracto en polvo para el gel

Cálculo para la elaboración del gel a 30 g.			
Número de Elaboraciones	Extracto en polvo	Gel preparado	Producto final
1.- GEEFMC 10%	3 gramos	27 gramos	30 gramos
2.- GEEFMC 15%	4.5 gramos	25.5 gramos	30 gramos
3.- GEEFMC 20%	6 gramos	24 gramos	30 gramos
Leyenda. GEEFMC: Gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla)			

Fuente: Elaboración propia.

3.6.1.3.4 Animales de experimentación

Se empleó 30 ratones albinos machos de cepa BALB/c, de entre 4 a 5 meses de edad, tratados en el bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos lugar donde se realizó la experimentación, en condiciones adecuadas, los ratones contaron con un peso de 31 a 43 gramos, se separaron aleatoriamente en 6 grupos de 5 miembros por grupo.



Figura N°8: Animales de experimentación. Fuente: elaboración propia

3.6.1.3.5 Distribución por grupo de los ratones albinos.

Distribución aleatoria de 5 animales por grupo.

Grupo I: Blanco, no recibe tratamiento.

Grupo II: C. Negativo, tratamiento del gel base.

Grupo III: GEEFMC 10%, se aplica el gel al 10%.

Grupo IV: GEEFMC 15%, se aplica el gel al 15%.

Grupo V: GEEFMC 20%, se aplica el gel al 20%.

Grupo VI: C. Positivo, tratamiento con producto Cicatricure®.

Leyenda.

GEEFMC: Gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L.
(manzanilla).

C. Negativo: control negativo

C. Positivo: control positivo

3.6.1.3.6 Ambiente de experimentación

La investigación se desarrolló en el bioterio de la UNMSM en sala de procedimientos experimentales con ratones y procesos de control de calidad.

Los ratones se trataron en ambientes óptimos en condiciones adecuadas tanto en alimentación como en temperatura según Guía de manejo y cuidados de animales de laboratorio: ratón del Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud dado en Lima 2008.

Cumpliendo con parámetros adecuados:

- Temperatura : 21.6°C.
- Humedad : 62%.
- Luz : Apropiaada.



Figura N°9: Ambiente del bioterio de la UNMSM Fuente: elaboración propia

3.6.1.3.7 Valoración y procedimiento del efecto cicatrizante.

Cada grupo fue marcado con plumones haciendo líneas de colores diferentes en la cola (una línea correspondía número 1, dos líneas número 2 y así sucesivamente hasta el número 5 de cada grupo).

Se utilizó el procedimiento adecuado para generar la lesión en la piel del ratón, y no afectación de los tejidos y estructuras celulares, la herida se realizó siguiendo los métodos descritos por Nayak.³⁷

Se utilizó crema depiladora para quitar el pelaje de la zona a inducir la herida, luego se dejó 24 horas para su estabilidad al término se procedió a realizar las incisiones con el instrumento bisturí con la intención de procurar cortes con mínimo daño tisular.

Se procedió a la aplicación durante 7 días cada 12 horas de la elaboración del gel a base del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) en diferentes proporciones, se utilizó como control positivo al producto comercial cicatricure®.

Al término de 7 días se procedió a evaluar la capacidad de restauración de la piel con el instrumento conocido como “dinamómetro”, previa eutanasia del ratón usando métodos no dolorosos, seguros y de acción rápida como las sobredosis anestésicas y sustancias depresoras del sistema nervioso central como es el pentobarbital (3mg/ml) y un producto veterinario que es anestésico general de nombre Halatal. Con el dinamómetro, se tomó la medida en gramos de la capacidad de resistencia de la cicatriz aplicando la fuerza de tensión entre un extremo y el otro de la herida cicatrizada permitiendo obtener resultados los cuales llevó a realizar comparaciones y efecto de las sustancias usadas; finalmente se realizaron cortes al tejido reparado para su estudio histopatológico; al finalizar los ensayos de investigación se procedió a la incineración de los animales muertos según normativa del bioterio UNMSM.

3.6.1.3.8 Eficacia de cicatrización

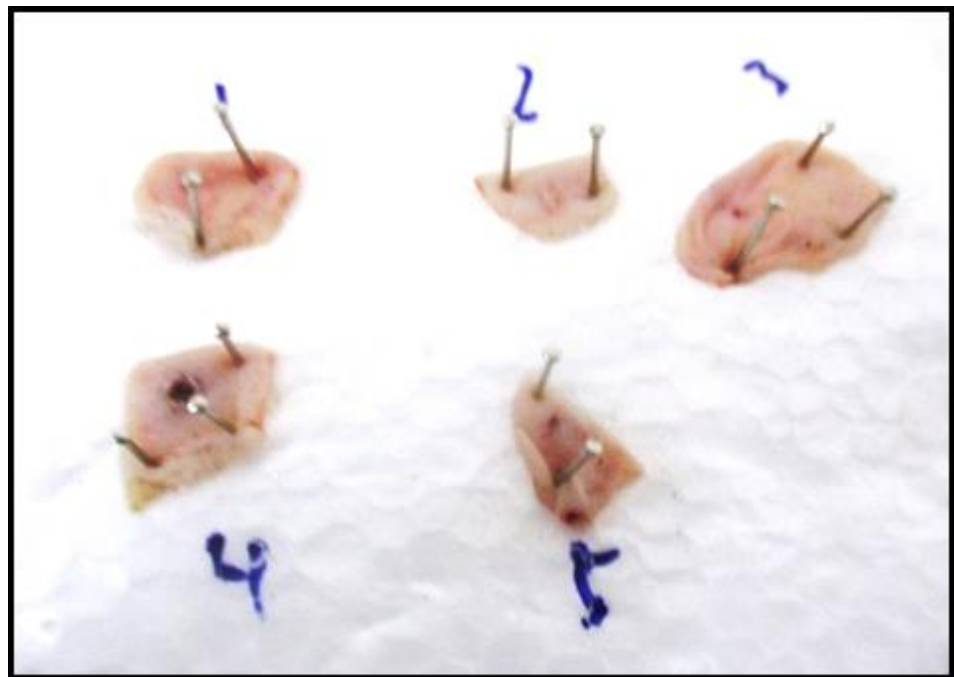
Se evaluó usando como valor de referencia y eficacia el tratamiento de la cicatrización al 100%, se usa como unidad de medida el gramo, necesario producir una abertura en piel intacta logrando una fuerza de tensión de 130g, y valorar la aplicación del tratamiento, propuesta por Vaisberg y col³⁸ mediante la aplicación de la fórmula:

$$\% \text{ Eficacia de cicatrización} = \frac{\text{Gramos para abrir cicatriz}}{\text{Gramos para abrir piel intacta}} \times 100$$

3.6.1.3.9 Estudio Histopatológico

El estudio histopatológico se realizó en el Hospital Arzobispo Loayza.

Realizada la eutanasia de los animales se procede a la disección de la zona cicatrizada del tejido dermal con una tijera de instrumental quirúrgico, se fijan los tejidos en plancha de tecnopor previamente asignados llevándose luego a un taper hermético con contenido de formol al 5%.



Fuente: elaboración propia.

Figura N°10: Cortes para el estudio histopatológico

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Presentación de resultados

4.1.1 Resultados de la reacción de solubilidad

Extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla)

Aplicación de los reactivos para la solubilidad del extracto.

Tabla N°9: Resultados de la reacción de solubilidad.

Solventes	Extracto etanólico
Metanol	++
Etanol	+++
Agua	++
Alcohol isopropílico	+
Cloroformo	-
Éter etílico	-
Acetonitrilo	+
Interpretación: Solubilidad no es visible(-), Solubilidad poco visible(+), Moderada solubilidad(++), Solubilidad visible o alta (+++), Alta solubilidad del extracto(++++)	

Fuente: elaboración propia.

4.1.2 Resultados del proceso de la marcha fitoquímica.

Tabla N°10: Resultados de la marcha fitoquímica

Reactivos para identificación de metabolitos secundarios	Cantidad en el extracto
Mayer: Alcaloides	++
Wagner: Alcaloides	++
Dragendorff: Alcaloides	++
Scheibler Alcaloides	++
Sonneschein Alcaloides	++
Reineckato: Alcaloides	++
Shinoda: Compuestos fenólicos y Flavonoides	++
Cloruro férrico: Compuestos fenólicos y Flavonoides	++
Gelatina al 1%: Compuestos fenólicos y Flavonoides	++
Bortranger: Compuestos fenólicos y Flavonoides	++
Ninhidrina: Aminoácidos	+
Hidróxido de sodio al 10%: Cumarinas	+
Espuma: saponinas	++
Interpretación: Solubilidad no es visible(-), Solubilidad poco visible(+), Moderada solubilidad(++), Solubilidad visible o alta (+++), Alta solubilidad del extracto(++++)	

Fuente: elaboración propia.

4.1.3 Resultados para la identificación de metabolitos primarios.

Tabla N°11: Resultados de la identificación de metabolitos primarios.

Sustancia de identificación de Metabolitos	Cantidad en el extracto
Reactivo de Fehling A Y B: Glúcidos	+
Reactivo de Molish: Glúcidos	+
Reactivo de Benedict: Glúcidos	++
Reactivo de lugol: Almidón	++
Reactivo de 2,4 DNPH: Cetonas	++
Interpretación: Solubilidad no es visible(-), Solubilidad poco visible(+), Moderada solubilidad(++), Solubilidad visible o alta (+++), Alta solubilidad del extracto(++++)	

Fuente: Elaboración propia.

4.1.4 Resultados para la identificación de proteínas y aminoácidos

Tabla N°12: Resultados de la identificación de Proteínas y Aminoácidos.

Sustancia de identificación de Metabolitos	Cantidad en el extracto
Reactivo de Biuret: proteínas	-
Reactivo de Millón: aminoácidos	++
Reactivo de Ninhidrina: aminoácidos	++
Reactivo de Acetato de plomo: aminoácidos	-
Reacción xantoproteica: aminoácidos	++
Interpretación: Solubilidad no es visible(-), Solubilidad poco visible(+), Moderada solubilidad(++), Solubilidad visible o alta (+++), Alta solubilidad del extracto(++++)	

Fuente: Elaboración propia.

4.1.5 Resultados del peso de los ratones y de la fuerza de tensión medida con el dinamómetro

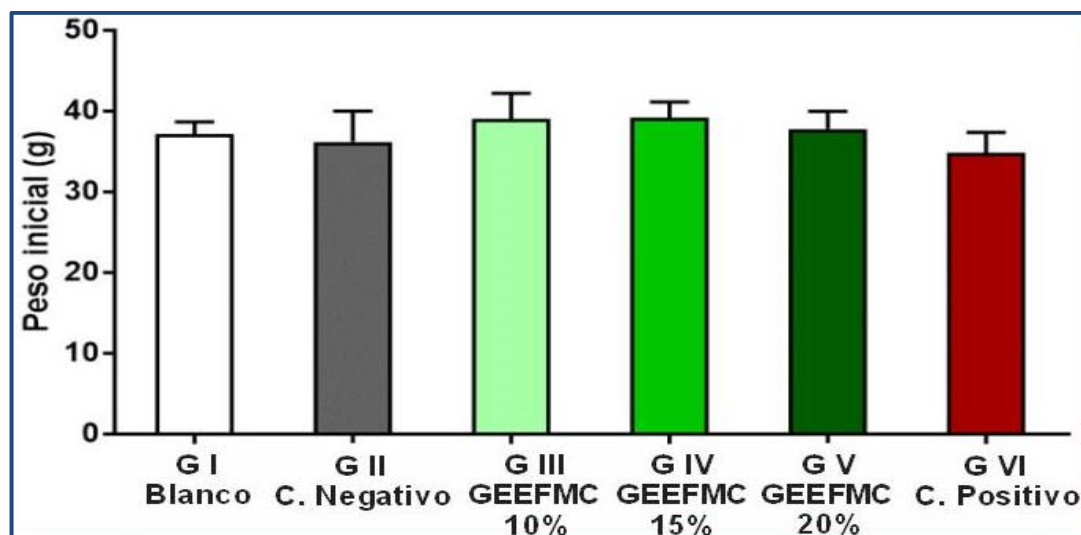
Tabla N°13: Peso de los animales.

Número de ratones	Grupos terapéuticos					
	G I Blanco	G II C. Negativo	G III GEEFMC 10%	G IV GEEFMC 15%	G V GEEFMC 20%	G VI C. Positivo
1	37	33	34	37	38	31
2	38	33	43	39	37	35
3	35	38	39	40	41	38
4	37	35	39	42	38	34
5	39	42	40	38	35	36

Leyenda: **C. Negativo:** Control negativo **C. Positivo:** Control positivo
GEEFMC :Gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla)

Total = 30 ratones

Fuente: elaboración propia



Fuente: elaboración propia

Figura N°11: ANOVA del peso inicial de los animales.

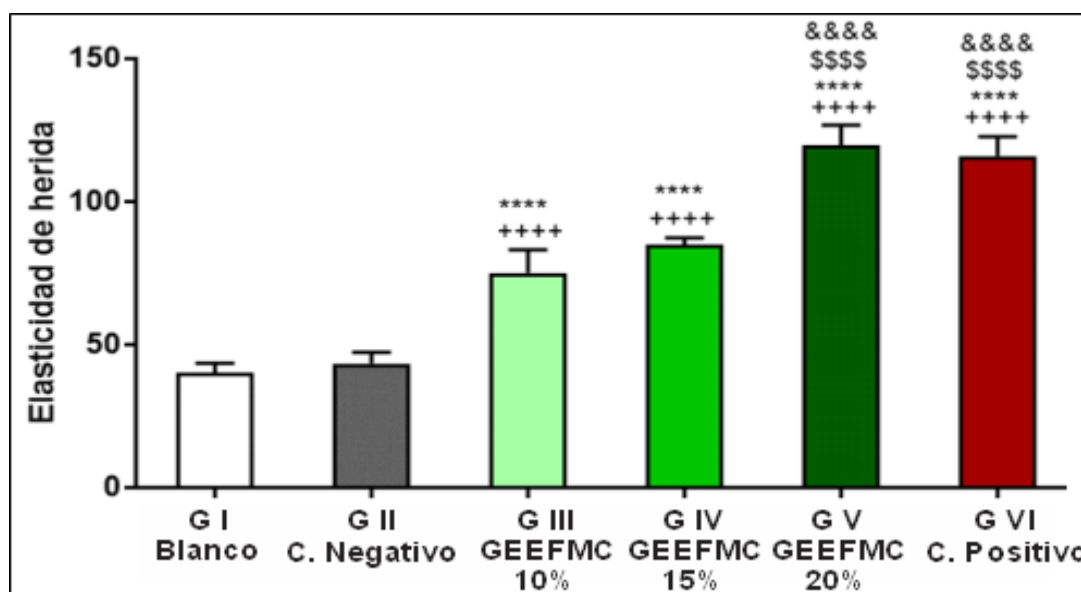
En el gráfico de los pesos iniciales por grupos de ratones en estadístico de ANOVA ($p > 0,05$) por lo que se observa que no presentaron diferencia significativa.

Tabla N°14: Resultados fuerza de tensión

Número de ratones	Medición en gramos de la fuerza de tensión por grupos terapéuticos					
	G I Blanco	G II C. Negativo	G III GEEFMC 10%	G IV GEEFMC 15%	G V GEEFMC 20%	G VI C. Positivo
1	40	49	66	84	112	126
2	36	38	73	85	124	107
3	38	44	82	81	129	115
4	43	42	70	88	114	115
5	44	44	85	86	120	117

Leyenda: **C. Negativo:** Control negativo **C. Positivo:** Control positivo
GEEFMC : Gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla)

Fuente: Elaboración propia



Fuente: elaboración propia

Figura N°12: elasticidad de la herida prueba de ANOVA ($p < 0,05$).

Gel del extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) (****) $p < 0,0001$ cuando comparado al grupo blanco; (****) $p < 0,0001$ cuando comparado al grupo control negativo; (\$\$\$\$) $p < 0,0001$ cuando comparado al grupo gel 10%; (&&&&) $p < 0,0001$ cuando comparado al grupo gel 15%.

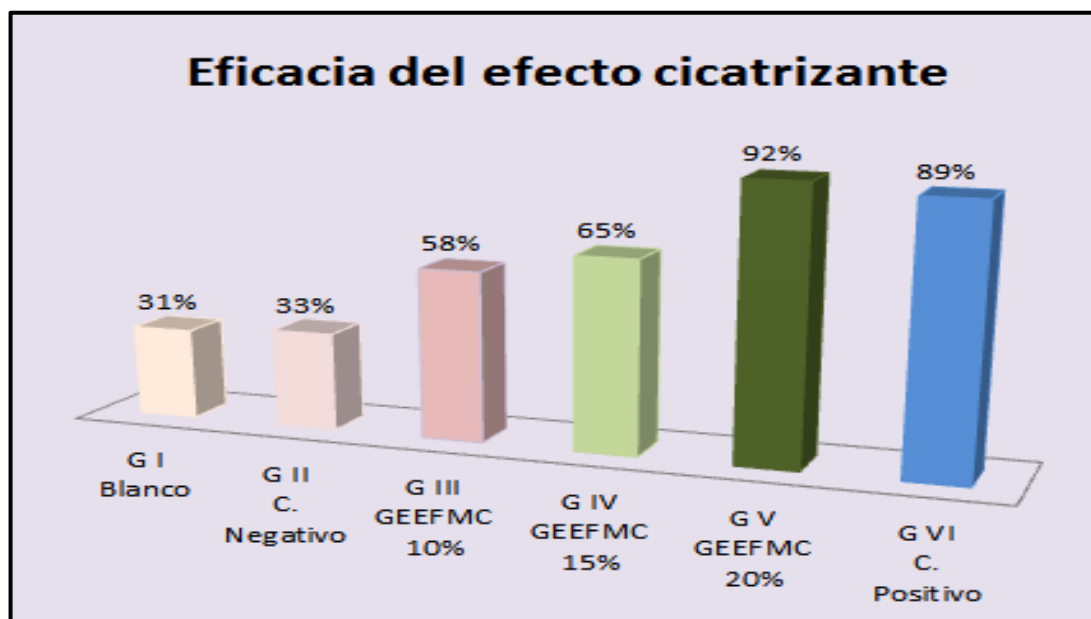
4.1.6 Resultados del método cicatrizante

Tabla N°15: eficacia de la cicatrización.

Número de ratones	EFICACIA (%) PORCENTUAL DEL EFECTO CICATRIZANTE					
	G I Blanco	G II C. Negativo	G III GEEFMC 10%	G IV GEEFMC 15%	G V GEEFMC 20%	G VI C. Positivo
1	31%	38%	51%	65%	86%	97%
2	28%	29%	56%	65%	95%	82%
3	29%	34%	63%	62%	99%	88%
4	33%	32%	54%	68%	88%	88%
5	34%	34%	65%	66%	92%	90%
Prom.	31%	33%	58%	65%	92%	89%

Leyenda: **C. Negativo:** Control negativo **C. Positivo:** Control positivo
GEEFMC :Gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla)

Fuente: Elaboración propia



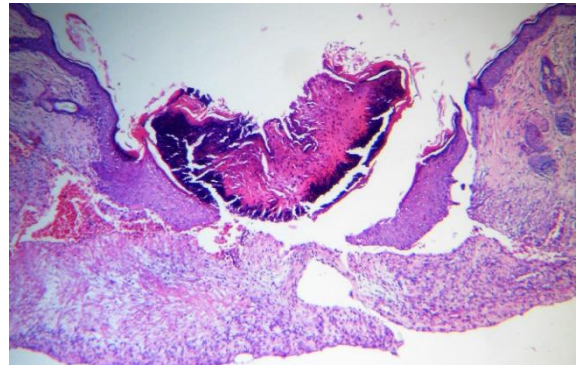
Fuente: Elaboración propia

Figura N°13: Determinación del proceso de cicatrización

Se observa el G.I Blanco no recibe tratamiento alguno sin embargo tiene efecto cicatrizante dada por el sistema inmunológico, G.II gel base alcanza 2% más sobre el Blanco, el G.III (GEEFMC 10%) alcanza 27% más sobre el Blanco, el G.IV (GEEFMC 15%) alcanza 34% más sobre el Blanco, el G.V (GEEFMC 20%) alcanza 61% más sobre el Blanco mientras que el G.VI (control positivo) alcanza 58% más sobre el grupo Blanco.

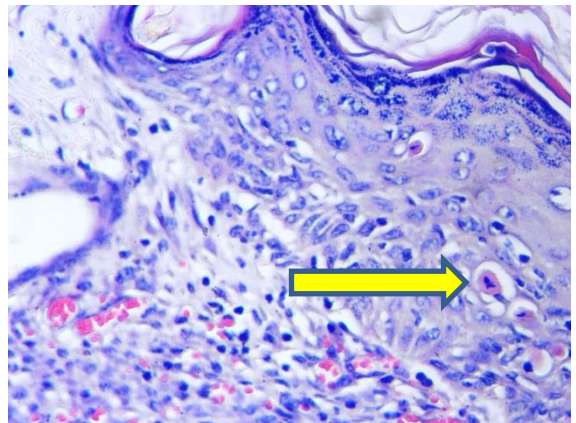
4.1.7 Resultados del estudio histopatológicos

El grupo I: Blanco, el resultado histopatológico muestra en panorámica (4X), en la zona de prueba, con una costra de leucocitos polimorfonucleares, suero y hematíes en la superficie, la reacción de la epidermis, con



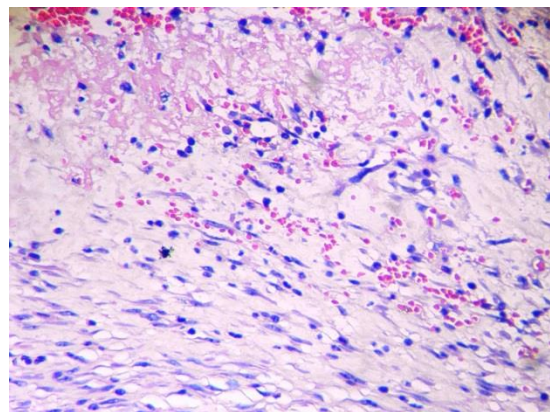
aumento del grosor de la capa granulosa y paraqueratosis a nivel de la herida. En la dermis subyacente, se observa dilatación de los vasos locales, hemorragia, suero, una leve reacción inflamatoria a leucocitos polimorfonucleares y formación de nuevos capilares sanguíneos, que indica que este tejido está atravesando por una etapa de cicatrización.

El grupo II: C. Negativo, el resultado histopatológico muestra engrosamiento de la epidermis, aumento de la capa granulosa, incluso presencia de algunos queratinocitos en apoptosis (cuerpos de Civatte), a gran aumento (40X - flecha). Inflamación



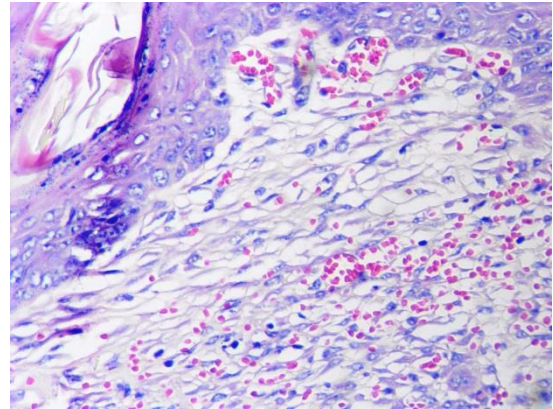
leve a nivel de dermis superficial, y en dermis profunda, algunos linfocitos y neutrófilos, formación de vasos capilares y extravasación de hematíes, formación de neovasos y leve hemorragia.

El grupo III: GEEFMC 10%, el resultado histopatológico a 10X muestra la zona de respuesta inflamatoria: Suero y sangre, con paraqueratosis, en la superficie; engrosamiento de la epidermis, y una reacción reparativa a edema y extravasación de hematíes en la



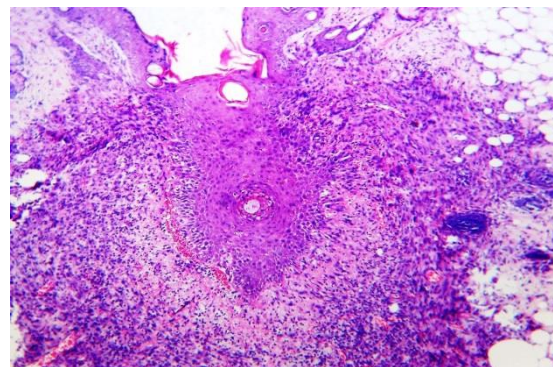
dermis, con escasa presencia de leucocitos polimorfonucleares y linfocitos, la presencia de edema y extravasación de hematíes.

El grupo IV: GEEFMC 15%, el resultado histopatológico a 10X muestra la reacción reparativa y la formación de costra en la superficie, engrosamiento en la epidermis y se puede ver mejor un aumento del colágeno en la dermis, que la hace ver más densa que en anteriores,

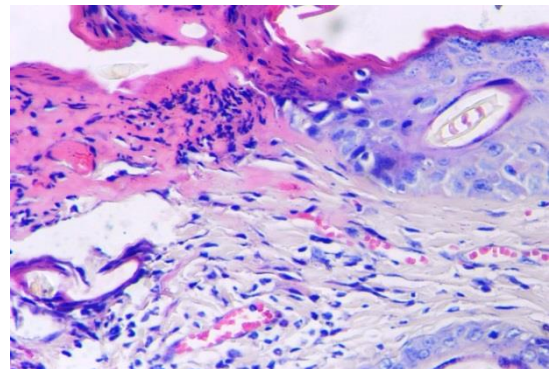


pero con menos leucocitos, principalmente linfocitos, con presencia de más fibroblastos y menos edema. Parecida a lo que sucede con Cicatricure®.

El grupo V: GEEFMC 20%, en este caso, la reacción inflamatoria se acompaña de mayor fibrosis en la dermis, así como mayor cantidad de linfocitos. Tal vez sea una concentración tóxica para el tejido. Sin embargo la neoformación de capilares es similar a los casos anteriormente observados, panorama 10X.



El grupo VI: C. Positivo, con el producto Cicatricure® el resultado histopatológico demuestra a 10X, en la costra superficial, un leve engrosamiento de la epidermis y leve inflamación a neutrófilos y linfocitos en la dermis papilar, que aumenta un poco en la dermis reticular, pero se limita en la hipodermis. Se repite la neovascularización. Se ve que la inflamación no llega hasta la parte más profunda de la piel. Los adipocitos mantienen un aspecto normal.



4.2 Contrastación de hipótesis

Se contrasta la hipótesis general en función de los resultados obtenidos en prueba estadística ANOVA, seguida de TUKEY (comparaciones múltiples) para continuar con el contraste de hipótesis específicas.

Hipótesis general

- **H₀**: El gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) no tiene efecto cicatrizante en ratones albinos.
- **H₁**: El gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) si tiene efecto cicatrizante en ratones albinos.

Se recurre al estadístico y se contrasta con ANOVA para evaluar la decisión.

Decisión: Se rechaza la H₀ y se acepta H₁, por lo que se demuestra que el gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) tiene efecto cicatrizante en ratones albinos.

Tabla N°16: Contraste con ANOVA

Prueba de ANOVA	
F	181.3
P value	<0.0001
P value summary	****
Diferencia significativa entre medias (P < 0.05)	Si
R square	0.9742

Fuente: Elaborado por los investigadores

Hipótesis específica 1

- **H₀**: Los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) no tienen un potencial efecto cicatrizante en ratones albinos.
- **H₁**: Los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) si tienen un potencial efecto cicatrizante en ratones albinos.

En el análisis del screening fitoquímica realizado del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla), se identificaron metabolitos secundarios responsables de un potencial efecto cicatrizante en ratones albinos.

Decisión: por lo que se rechaza H₀ y se acepta H₁

Hipótesis específica 2

- **H₀**: No hay concentración del gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) que tiene mejor efecto cicatrizante en ratones albinos.
- **H₁**: Al menos una concentración del gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) tiene mejor efecto cicatrizante en ratones albinos.

Con el análisis de ANOVA y Tukey el valor $p < 0.005$, para todas las concentraciones (10, 15 y 20%) del gel del extracto etanólico, ratificando un mejor efecto cicatrizante en ratones albinos.

Decisión: por lo que se rechaza H₀ y se acepta H₁

Hipótesis específica 3

- **H₀**: El gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) no tiene mayor efecto cicatrizante respecto al cicatricure en ratones albinos.
- **H₁**: El gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) si tiene mayor efecto cicatrizante respecto al cicatricure en ratones albinos.

En el análisis de Tukey de las correlaciones se observa que la mayor concentración del gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) evidenció tener mayor efecto cicatrizante respecto al cicatricure en ratones albinos.

Decisión: por lo que se rechaza H₀ y se acepta H₁

4.3 Discusión de resultados

En la tabla N° 10 se muestra que se identificaron diferentes familias de metabolitos secundarios siendo probablemente el responsable de la actividad cicatrizante los flavonoides, dichos resultados son muy semejantes al obtenido por Pintado (2017) en su tesis: Extracción y determinación preliminar de metabolitos secundarios en las flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla); y el de los autores Guardia y Cosavalente (2015) en su tesis: Cuantificación de flavonoides totales de las flores tubulares de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla).

En el estudio farmacológico de la actividad cicatrizante mediante la tensión superficial o fuerza de tensión se determinó que el extracto etanólico al 20% tiene mayor actividad debido a que se reduce la tensión superficial respecto al del 10% y al 15%, probablemente por la presencia de los flavonoides dichos resultados son muy similares al de Castro (2015) en su tesis: Evaluación del efecto desinflamatorio y cicatrizante de 3 diferentes concentraciones de una infusión de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) vía tópica, en orquiectomía de lechones. Como se ha demostrado macroscópicamente al 20% tiene efecto cicatrizante sin embargo en el estudio histopatológico se ha podido evidenciar que la reacción inflamatoria se acompaña de mayor fibrosis en la dermis posiblemente sea una concentración toxica para el tejido.

Al realizar el estudio comparativo del gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) se demostró que al 20% tiene un efecto cicatrizante del 92% siendo mejor al Cicatricure® que tiene un efecto de cicatrización del 89%, sin embargo las concentraciones del 10% (58%) y 15% (65%) no superan al Cicatricure®, dichos resultados son parecidas al propuesto por Mogrovejo (2014) en su tesis: Determinación del efecto cicatrizante de un gel estandarizado de *Calendula officinallis* L. (calendula) en animales de experimentación.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- 1.- Los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) son flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas, cumarinas, con un potencial efecto cicatrizante en ratones albinos.
- 2.- La concentración del gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) al 20% tiene mayor efecto cicatrizante en ratones albinos.
- 3.- El gel del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) al 20% tiene mayor efecto cicatrizante (92%) respecto al Cicatricure® (89%) sin embargo no es superado por el gel al 10% y 15% en ratones albinos.

5.2 Recomendaciones

- 1.- Aislar y cuantificar los metabolitos secundarios identificados y evaluar quien es el responsable del efecto cicatrizante.
- 2.- Realizar estudios complementarios con otras concentraciones que garanticen un mejor resultado histopatológico.
- 3.- Realizar estudios del efecto cicatrizante con otras formas farmacéuticas como pomadas, cremas, que refuercen lo mencionado en la presente investigación.

REFERENCIAS

1. Bussmann R, Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia. Trujillo: Graficart S.R.L.; 2015.
2. Castro S. Evaluación del efecto desinflamatorio y cicatrizante de 3 diferentes concentraciones de una infusión de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) vía tópica, en orquiectomía de lechones. Universidad San Carlos de Guatemala; 2015.
3. Zevallos L, Reyna A. Oferta y demanda de médicos especialistas en los establecimientos de salud del Ministerio de Salud: brechas a nivel nacional, por regiones y tipo de especialidad Rev. Perú Med Exp Salud Pública; 2011; 28(2): 177-85.
4. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Condiciones de vida en el Perú. Lima: INEI; 2018.
5. Pintado R. Extracción y determinación preliminar de metabolitos secundarios en las flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) provenientes de ayabaca, alto Piura. Tesis de Pregrado. Piura, Perú. Universidad de San Pedro; 2017.
6. Guardia C, y Cosavalente K. Cuantificación de flavonoides totales de las flores tubulares de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) y su efecto en íleon aislado de *cavia porcellus*. Tesis de pregrado. Piura, Perú. Universidad Nacional de Trujillo; 2015.
7. Pichilingue M. Efecto cicatrizante de una crema dérmica formulada con la tintura *Árnica montana* (árnica) en heridas inducidas en el lomo de ratones albinos y comparación con el Hipoglos crema. Tesis pregrado. Lima. Universidad Alas Peruanas; 2015.
8. Mogrovejo A. Determinación del efecto cicatrizante de un gel estandarizado de *Calendula officinallis* L. (calendula) en animales de experimentación. Tesis de pregrado. Arequipa. Universidad Católica de Santa María; 2014.
9. Luján M, Ayala C, Castillo E, Pinedo C. & Durand C. Desarrollo de un gel de fruto de *Vaccinium corymbosum* L. (Ericaceae) con actividad regeneradora de tejido dérmico. 2018. 25 (2): 529-538. doi: 10.22497/arnaldoa.252.25212.

10. Gallardo G. y Barboza L. Efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* (sangre de drago). Artículo original. Rev Cient Cienc Méd vol.18 n° 1. Cochabamba; 2015.
11. Chávez K. et al. Efecto cicatrizante de una crema formulada a partir de homogenizado de cordón umbilical humano en heridas incisas inducidas en ratones. Artículo original. Rev Int Salud Materno Fetal; 2017; 2 (4): 8-14
12. Salazar M. Efecto cicatrizante y regenerativo de los geles tópicos elaborados a base del extracto seco de las hojas de *Mauria heterophylla* H.B.K., tres hojas en *rattus rattus* var. *Albinus*. Tesis pregrado. Universidad privada Antonio Guillermo urrelo. Cajamarca, 2018.
13. Loja J. Elaboración de un gel antimicótico a base de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y matico (*Piper angustifolium*) en la provincia de oro. Tesis de pregrado. Machala, Ecuador. Universidad técnica de Machala, 2014.
14. Proaño J. Comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de romero (*rosmary officinalis*), matico (*piperaduncum*) y cola de caballo (*equisetum arvense*), en heridas inducidas en ratones, Riobamba Ecuador, 2013.
15. Cruz P. Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguietia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para industria Neo-fármaco, Riobamba Ecuador, 2010.
16. Garbuio D, et al. Seguridad de una formulación conteniendo micropartículas de quitosano con manzanilla: ensayo clínico, enmascarado y controlado. Artículo original. Rev. Latino-Am. Enfermagem vol.26 Ribeirao Preto, Brasil, 2018.
17. Martínez H, et al. Evaluación in vivo del efecto cicatrizante de un gel a base de quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Revista colombiana de biotecnología, vol. 16, N°.1, 2014.
18. González C. Comparación del efecto cicatrizante de la pomada a base de milenrama (*Achillea millefolium*), corteza de encino (*Quercus acatenangensis trelease*), sábila (*Aloe vera*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) versus

violeta de genciana en heridas post-castración de lechones. Facultad de medicina veterinaria Universidad de Guatemala, 2015.

19. Castillo E y Martinez I. Manual de fitoterapia. 2da edición. Elsevier España 2016.
20. Cañihual S. La fitoterapia: Una terapéutica para el tercer milenio, Revista de Fitoterapia. 2002; 2 (2): 101-121. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/228863288_La_Fitoterapia_una_terapeutica_para_el_tercer_milenio
21. Domingo D, Lopez M. Plantas con acción antibacteriana. Rev Esp Quimioterapia. 2013; 16(4):185-396
22. Bruno M. Preparación y uso de macerados, infusiones y decocciones. Primera Edición. España. Bruno del médico; 2014.
23. Sharapin N. Machado L, Pinzón S. Fundamento de la tecnología de productos fitoterapéuticos. Primera edición. Colombia: Santafé de Bogotá; 2000.
24. Gomez M, Reyes S, Paredes L. La manzanilla y sus propiedades medicinales. Revista de Investigación e información en Salud. Cochabamba, 2015.
25. Singh O, Khanam Z, Misra N y Srivastava M. Manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.): una visión general. Departamento de Bioquímica, universidad de Bundelkhand, India. Pharmacogn Rev. 2011 Ene; 5(9): 82-95. Doi: 10.4103/0973-7847.79103
26. Borja V. Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*Plantago major* L.) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*. (Tesis). Universidad Central del Ecuador. Ecuador. 2017.
27. Barbul A, Efron D y Kavalukas L. Schwartz Principios de Cirugía. 10ma Edición. Editorial Mcgraw Hill, 2015

28. Andrea B. Actividad Anti-inflamatoria de los extractos de plantas medicinales empleados en el Austro Ecuatoriano, ecuador 2013.
29. Esteban P. Formulación y control de calidad de un enjuague bucal elaborado a partir de los extractos totales de *Matricaria recutita* L. (manzanilla) y de *Salvia officinalis* L. (salvia), 2015
30. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica plantas medicinales. Editorial ACRIBIA, S.A. 2da edición, 2001.
31. Gonzales A. Aceite de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) y su potencial de producción sustentable para su uso medicinal. México, 2012. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/7243>
32. García J, Mínguez J, Rodríguez M y Valle A. Manual CTO de Medicina y Cirugía. 10ma Edición. CTO Editorial, S.L, 2018
33. Vila J. Tecnología farmacéutica volumen II: Formas farmacéuticas. Editorial Síntesis S.A. Madrid, 2001.
34. Vanaclocha B, Cañihual S. Fitoterapia Vademécum de prescripción. Cuarta edición. España: Masson; 2003.
35. Sánchez H. y Reyes C. Metodologías y diseños en la investigación científica. Business Support Aneth S.R.L. Lima Perú, 2015.
36. Lock O. En investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3era.ed, 2016.
37. Nayak B, et al. Evaluación de la Actividad de la herida de curación *Vanda roxburghii* R.Br (Orchidacea): Un estudio preclínico en un modelo de rata. Universidad de las Indias Occidentales. 4 (4): 200-4; 2005. DOI:10.1177/1534734605282994.
38. Guillermo F, Bonilla P, Arroyo J. efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellaefolia* R. et P. en geles aplicados a *Ratus norvergicus*. Folia dermatol. Perú 2005; 16 (1): 15-22.

ANEXO N 1

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO: EFECTO CICATRIZANTE TÓPICO DEL GEL ELABORADO CON EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) EN RATONES ALBINOS.

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVOS GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACION DE VARIABLES			METODOLOGÍA
¿El gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) tendrá efecto cicatrizante en ratones albinos?	Determinar si el gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) presenta efecto cicatrizante en ratones albinos.	El gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) tiene efecto cicatrizante en ratones albinos.	V. INDEPENDIENTE	DIMENSION	INDICADORES	Tipo: Básica Nivel: Explicativo Diseño: Experimental Población o muestra: Ratones albinos Flores en extracto etanólico Técnica: Cualicuantitativa Instrumento: Ficha de recolección de datos. Dinamómetro
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	Gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla)	Escala de concentración del gel	Extracto etanólico Metabolitos secundarios	
1. ¿Qué metabolitos secundarios presenta el extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) con un potencial efecto cicatrizante en ratones albinos?	1. Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) con un potencial efecto cicatrizante en ratones albinos.	1. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) tienen un potencial efecto cicatrizante en ratones albinos.	V. DEPENDIENTE	DIMENSION	INDICADORES	
2. ¿Cuál será la concentración del gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) que tendrá mayor efecto cicatrizante en ratones albinos?	2. Determinar la concentración del gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) con mayor efecto cicatrizante en ratones albinos.	2. La mayor concentración del gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) tiene mejor efecto cicatrizante en ratones albinos.	Efecto cicatrizante	Fuerza de tensión	Cicatrización de la herida Resistencia de la cicatrización	
3. ¿El gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) tendrá mayor efecto cicatrizante respecto al cicatricure en ratones albinos?	3. Determinar si el gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) tiene mayor efecto cicatrizante respecto al cicatricure en ratones albinos.	3. El gel del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> L. (manzanilla) tiene mayor efecto cicatrizante respecto al cicatricure en ratones albinos.				

ANEXO N 2

CERTIFICADO DE MUESTRA BOTANICA *MATRICARIA CHAMOMILLA L.*



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



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 419 -USM-2018

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

La muestra vegetal (ramas con hojas e inflorescencia) recibida de **Luis Alberto Muñoz Yucra y Juan Manuel Tueros Vasquez**, estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ha sido estudiada y clasificada como: ***Matricaria chamomilla* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: *Matricaria*

ESPECIE: *Matricaria chamomilla* L.

Nombre vulgar: "manzanilla"

Determinado por: Mg. María Isabel La Torre Acuy

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

Lima, 19 de noviembre de 2018



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

ACE/ ddb

ANEXO N 3



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

FICHA DE OBSERVACIÓN, AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS

EFFECTO CICATRIZANTE TÓPICO DEL GEL ELABORADO CON EL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE LA *MATRICARIA CHAMOMILLA L.* (MANZANILLA) EN RATONES ALBINOS

Opinión del experto luego de la revisión:

Indicadores	Criterios	50 %	60 %	70 %	80 %	90 %	100 %
Claridad	lenguaje claro y bien detallado						X
Objetividad	detallada claramente sin dudas						X
Actualidad	presenta referencias actualizadas						X
Organización	presenta una organización coherente y detallada						X
Suficiencia	Coherencia						X
Intencionalidad	presenta relación con los objetivos						X
Consistencia	detallada teóricamente y científicamente						X
Coherencia	existe relación entre indicadores y los resultados						X
Metodología	estrategia utilizada concuerda con la investigación						X

VALIDADO POR: DR. Néstor V. Muñoz

FECHA: 28/06/2019

OBSERVACIONES: _____

FIRMA: [Firma]

ANEXO N 5



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

FICHA DE OBSERVACIÓN, AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO CICATRIZANTE TÓPICO DEL GEL ELABORADO CON EL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE LA *Matricaria chamomilla* L. (Manzanilla) EN RATONES ALBINOS

Opinión del experto luego de la revisión:

Indicadores	Criterios	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Claridad	enlace claro y bien detallado						X
Objetividad	detallada claramente sin dudas						X
Actualidad	presenta referencias actualizadas						X
Organización	presenta una organización coherente y detallada						X
Suficiencia	Coherencia						X
Intencionalidad	presenta relación con los objetivos						X
Consistencia	detallada teóricamente y científicamente						X
Coherencia	existe relación entre indicadores y los resultados						X
Metodología	estrategia utilizada concuerda con la investigación						X

VALIDADO POR: Mg. Q.F. OSCAR FLORES LÓPEZ

FECHA: 28-06-19

OBSERVACIONES: Aplicable

FIRMA: [Firma]
1394

ANEXO N 6



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

FICHA DE OBSERVACIÓN, DE RECOLECCION DE DATOS (EFECTO CICATRIZANTE)

EFECTO CICATRIZANTE TÓPICO DEL GEL ELABORADO CON EL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE LA *MATRICARIA CHAMOMILLA L.* (MANZANILLA) EN RATONES ALBINOS

Opinión del experto luego de la revisión:

SCREEN FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE LA <i>MATRICARIA CHAMOMILLA L.</i> (MANZANILLA) EN RATONES ALBINOS			
GRUPO	TRATAMIENTO	MEDICIÓN DE LA FUERZA DE TENSIÓN EN GRAMOS	EFICACIA (%) PORCENTUAL DEL EFECTO CICATRIZANTE
Control	No aplica		
Control negativo	Gel sin p.a.		
Tratamiento al 10%	gel al 10%		
Tratamiento al 15%	gel al 15%		
Tratamiento al 20%	gel al 20%		
Control positivo	gel comercial (Cicatricure®)		

VALIDADO POR: *Dra. Helene V. Herrera*
 FECHA: *28/05/2019*
 OBSERVACIONES: _____
 FIRMA: _____

ANEXO N°7: MANZANILLA BIOHUERTO SANTA ROSA



Figura N°14: Recolección de la planta de la *Matricaria chamomilla* L. biohuerto Santa Rosa -2 Villa María del Triunfo.

ANEXO N°8: ELECCIÓN DE LAS FLORES DE MANZANILLA

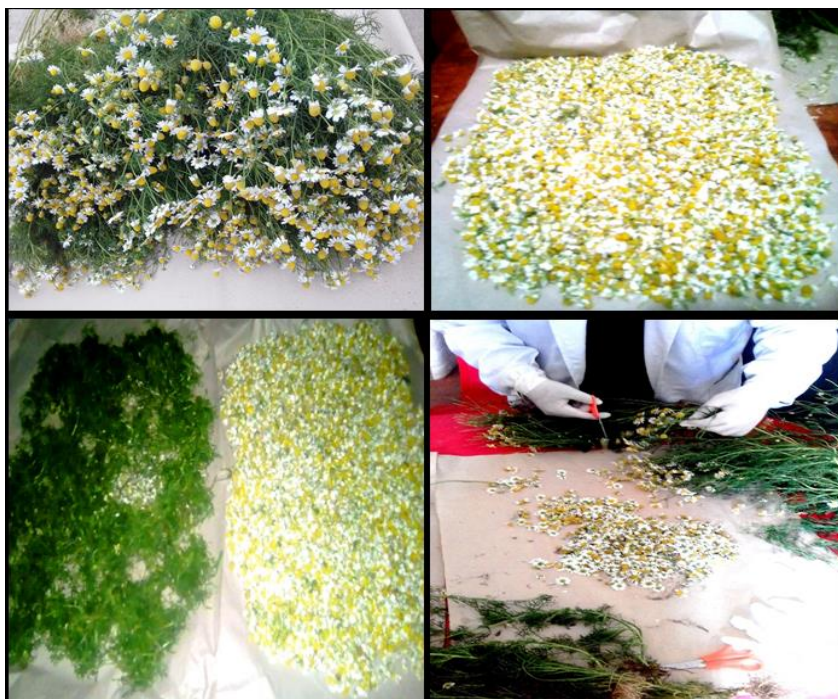


Figura N°15: Preparación de la materia prima para el comienzo del proceso de maceración.

ANEXO N°9: OBTENCIÓN, FILTRACIÓN Y SECADO



Figura N°16: Proceso de obtención de la muestra en etanol y filtración de la muestra de las flores de la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.).

ANEXO N°10: SOLUBILIDAD

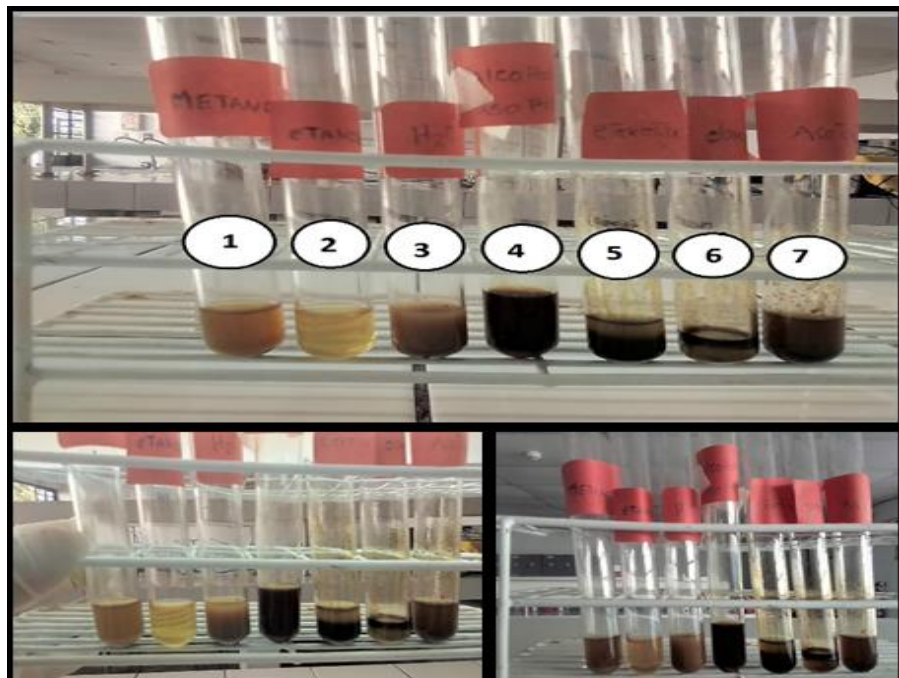


Figura N°17: solubilidad del extracto etanólico de las flores de la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.)

ANEXO N°11: DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS Y AMINOÁCIDOS



Figura N°18: Reactivo de Ninhidrina en el extracto etanólico de las flores de la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.)



Figura N°19: Prueba reactivo de MILLON del extracto etanólico de las flores de la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.)

ANEXO N°12: DEPILACIÓN Y PRUEBA DE TOXICIDAD



Figura N°20: preparación del lomo para la incisión mediante la depilación, luego la prueba de toxicidad con el gel elaborado dejando en observación por 48 horas.

ANEXO N°13: TRATAMIENTO A LOS GRUPOS



Figura N°21: Proceso de tratamiento de los animales de experimentación, ratones albinos cepa-BALB-C-53

ANEXO N°14: SEDACIÓN



Figura N°22: Procedimiento para el proceso de sedación, para proceder a la evaluación con el dinamómetro y el estudio histopatológico.

ANEXO N°15: EVALUACIÓN CON EL DINAMÓMETRO



Figura N°23: procedimiento de evaluación con el dinamómetro para medir la fuerza de la cicatrización.

ANEXO N°16: CORTES HISTOLÓGICOS



Figura N°24: Cortes histológicos para el estudio patológico y determinar la calidad de cicatrización del producto y final de la investigación.

ANEXO N°17: MUESTRAS HISTOLÓGICAS



Figura N°25: Cortes histológicos.

ANEXO N°18: Presentación del producto comercial



Notificación Sanitaria Obligatoria de código E-32130-C-PE. La Digemid precisó que la información que habría aprobado como propiedades del citado producto era la siguiente: "Gel hidratante y humectante para cicatrices. Su uso frecuente puede mejorar visiblemente las cicatrices suavizándolas".



Genomma Lab.

LINEA CICATRICURE
FICHA TÉCNICA
GENOMMA INSTITUCIONAL

Cicatricure® Regenext IV® Complex

Cicatricure® Gel

Cicatricure® Gel ayuda a disminuir la inflamación y desvanecer gradualmente las cicatrices, ya sean normales, hipertróficas y queloides.

De entre los principales principios activos de Cicatricure® Gel se encuentran los de origen natural como son: Extracto de cebolla (*Allium cepa*), Extracto de manzanilla (*Chamomilla recutita*), Extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*), Extracto de Concha nácar, Extracto de nogal (*Juglans regia*), Extracto de sábila (*Aloe vera*), Extracto de centella asiática y Aceite esencial de bergamota (*Citrus aurantium bergamia*).

ANEXO N°19: Certificado de ratón



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

CERTIFICADO SANITARIO N° 256-2018

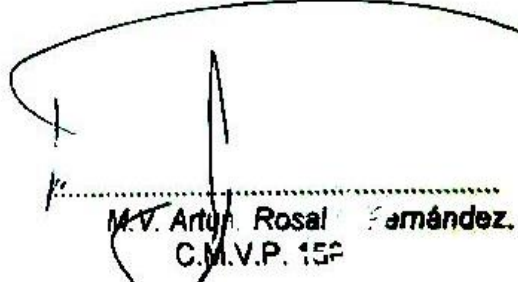
Producto	: Ratón albino	Lote N°	A - 25 - 2018
Especie	: <i>Mus musculus</i>	Cantidad	30
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	3 meses
Peso	: Mayor a 30 g	Sexo	macho
Guía de remisión	: 0010025	Destino	: Lima
Chorritos	: 10 - 12 - 2018		

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

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

Chorrillos,

(Fecha de emisión del certificado)


M.V. Artur Rosal Fernández,
C.M.V.P. 152

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

Anexo N°20: Resultados de análisis con Tukey en la prueba de comparaciones múltiples

Prueba de comparaciones múltiples (prueba de Tukey)						
Prueba de comparaciones múltiples	Prom. 1	Prom. 2	Dif. de prom.	95.00% IC	Valor de p	Interpretación
Control vs. Control Negativo	40.2	43.4	-3.2	-14.31 a 7.908	0.9451	No existe dif. Estad.
Control vs. Gel 10%	40.2	75.2	-35	-46.11 a -23.89	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Control vs. Gel 15%	40.2	84.8	-44.6	-55.71 a -33.49	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Control vs. Gel 20%	40.2	119.8	-79.6	-90.71 a -68.49	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Control vs. Control Positivo	40.2	116	-75.8	-86.91 a -64.69	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Control Negativo vs. Gel 10%	43.4	75.2	-31.8	-42.91 a -20.69	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Control Negativo vs. Gel 15%	43.4	84.8	-41.4	-52.51 a -30.29	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Control Negativo vs. Gel 20%	43.4	119.8	-76.4	-87.51 a -65.29	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Control Neg. vs. Control Pos.	43.4	116	-72.6	-83.71 a -61.49	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Gel 10% vs. Gel 15%	75.2	84.8	-9.6	-20.71 a 1.508	0.1183	No existe dif. Estad.
Gel 10% vs. Gel 20%	75.2	119.8	-44.6	-55.71 a -33.49	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Gel 10% vs. Control Positivo	75.2	116	-40.8	-51.91 a -29.69	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Gel 15% vs. Gel 20%	84.8	119.8	-35	-46.11 a -23.89	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Gel 15% vs. Control Positivo	84.8	116	-31.2	-42.31 a -20.09	<0.0001	Si existe dif. Estad. con p<0,0001
Gel 20% vs. Control Positivo	119.8	116	3.8	-7.308 a 14.91	0.893	No existe dif. Estad.