

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**Efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara
del fruto de *Punica granatum L.* "granada"
en ratas albinas. Ayacucho 2018.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

Presentado por la:
Bach. NAJARRO ROJAS, Susan Marita

AYACUCHO – PERÚ
2019

A mis padres, por su apoyo
incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por ser forjador de profesionales con capacidad creativa, innovadora y liderazgo; con una sólida base de principios éticos y valores para el desarrollo sostenible y bienestar en favor de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, a sus profesionales docentes por la elogiada labor que realizan, entre enseñanzas y orientaciones durante la formación profesional de sus futuros colegas.

A mi asesor Mg. Q.F. Edgar Cárdenas Landeo y al docente Mg. Q.F. Marco Aronés Jara por permitirme recurrir a su capacidad y experiencia científica, en la realización de la presente tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes de estudio	3
2.2. Aspectos botánicos de <i>Punica granatum</i> L. "granada"	7
2.3. Metabolitos secundarios que intervienen en la cicatrización	9
2.4. Piel	11
2.5. Herida	12
2.6. Cicatrización	13
2.7. Administración sobre piel y mucosas	14
2.8. Crema	15
2.9. Fármaco referencia	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Lugar de investigación	17
3.2. Población y muestra	17
3.3. Diseño metodológico para recolección de datos	17
3.4. Diseño experimental	22
3.5. Análisis estadístico	23
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	45
VII. RECOMENDACIONES	47
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS	53

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Proporcionalidad de los excipientes de la crema base	20
Tabla 2. Proporcionalidad de la crema base y el principio activo extracto fluido de la cáscara de <i>Punica granatum L.</i> "granada"	21
Tabla 3. Resultados de la identificación fitoquímica del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> "granada". Ayacucho - 2018	27
Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> "granada". Ayacucho - 2018	28

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Área de la herida según los tratamientos en función del tiempo por efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum</i> L. "granada". Ayacucho 2018	29
Figura 2. Área de la herida a los 8 días; con los diferentes tratamientos elaborados del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum</i> L. "granada". Ayacucho 2018	30
Figura 3. Área de la herida a los 10 días; con los diferentes tratamientos elaborados del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum</i> L. "granada". Ayacucho 2018	31
Figura 4. Área de la herida a los 12 días; con los diferentes tratamientos elaborados del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum</i> L. "granada". Ayacucho 2018	32
Figura 5. Área de la herida a los 14 días; con los diferentes tratamientos elaborados del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum</i> L. "granada". Ayacucho 2018	33
Figura 6. Área de la herida a los 16 días; con los diferentes tratamientos elaborados del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum</i> L. "granada". Ayacucho 2018	34
Figura 7. Comparación histopatológica entre el blanco, estándar y tratamientos del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum</i> L. "granada" al 1 %, 2 % y 4 % a los 16 días. Ayacucho 2018	35

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de descripción taxonómica de <i>Punica granatum L.</i> “granada” Ayacucho 2017	55
Anexo 2. Inserto del estándar, Traumaplant 10 %. Ayacucho 2018	56
Anexo 3. Flujograma de procedimientos del extracto fluido de la cáscara del futo de <i>Punica granatum L.</i> “granada”.	57
Anexo 4. Identificación fitoquímica del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada”	58
Anexo 5. Resultado de la identificación fitoquímica de extracto fluido de la cáscara de fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada” Ayacucho 2018.	59
Anexo 6. Preparación y obtención del extracto fluido de la cáscara de fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada”. Ayacucho 2018	60
Anexo 7. Preparación de la Forma Farmacéutica (Crema) a partir del extracto fluido de la cáscara de fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada”. Ayacucho 2018.	61
Anexo 8. Procedimiento quirúrgico. Ayacucho 2018	62
Anexo 9. Procedimiento para hallar el área de la herida (mm ²); utilizando el programa AutoCAD Civil 3D 2017. Ayacucho 2018	63
Anexo 10. Comparación de la herida; en los 16 días de tratamiento. Ayacucho 2018.	64
Anexo 11. Obtención de la muestra para la comparación histopatológico de las heridas según tratamientos, blanco y estándar	65
Anexo 12. Valores descriptivos de la disminución de la herida. Ayacucho 2018	66
Anexo 13. Análisis de varianza. Ayacucho 2018	67
Anexo 14. Comparaciones múltiples de la prueba de Duncan. Ayacucho 2018	68
Anexo 15. Matriz de consistencia	69

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación de tipo Básico – Experimental. El objetivo es determinar el efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”. La ejecución se realizó en los laboratorios de Farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Para la determinación del efecto cicatrizante se utilizó el método propuesto por Monton¹. Se da inició con la selección y desecación al medio ambiente de la cáscara de *Punica granatum L.* “granada”; se redujo de tamaño y se procedió a obtener el extracto hidroalcohólico por percolación hasta agotamiento y su posterior concentración hasta obtener un extracto fluido; luego se realizó su identificación fitoquímica donde se encontró taninos en mayor cantidad, seguido de saponinas, antocianos, y en menor cantidad flavonoides y lactonas. Se evaluaron los parámetros fisicoquímicos donde se obtuvo: sus características organolépticas presentan un color granate intenso, olor *sui generis*, sabor astringente y aspecto fluido; con un pH de 3,37. Se elaboró las cremas a partir del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” a 3 concentraciones 1 %, 2 % y 4 %. Se evaluó el efecto cicatrizante mediante el método de análisis digital de superficies; para ello se utilizó 40 ratas albinas de la cepa Holtzman, con un peso entre 180 a 250 g, de un solo sexo (hembras). Como tratamiento se usó las cremas elaboradas que se compararon con un blanco (crema base) y con el grupo control tratado con medicamento comercial (Traumaplant[®]). La medición del área de la herida se realizó cada dos días, hasta completar los 16 días; donde la medida del área de la herida muestra que los tratamientos al 1 % y 2 % con 0,09 y 0,31mm² son estadísticamente similares; mientras que el tratamiento al 4 % y el estándar Traumaplant[®] 5,11 mm² para ambos casos; estos tratamientos difieren significativamente del blanco que presenta 16,76 mm² ($p \leq 6,57 \times 10^{-18}$). Se realizó la comparación histopatológica de los diferentes grupos de estudio (Blanco, estándar, tratamientos al 1 %, 2 % y 4 %). Donde el tratamiento al 2 % es el que resalta por estar mejor estructurada y definida a comparación de otros tratamientos; presenta un mejor cierre de la herida; una epidermis formada; una dermis desarrollada y escaso material inflamatorio, así como también la presencia de colágeno en la dermis profunda. Se concluye que el extracto fluido de la cáscara del fruto *Punica granatum L.* “granada” si presenta efecto cicatrizante.

Palabras clave: *Punica granatum L.*, efecto cicatrizante, granada.

I. INTRODUCCIÓN

La gran riqueza y variedad de flora en nuestro país nos permite gozar una diversidad multivariada en cuanto a plantas ornamentales, frutales, medicinales, etc. Siendo de interés las plantas medicinales para esta investigación; *Punica granatum L.* “granada” planta frutal, ornamental y también de valor medicinal, no solo nos permite su uso como fruto de agradable sabor, sino que también permite un segundo uso a partir de las cáscaras de este sabroso fruto; pudiendo ser aprovechada en sus múltiples beneficios en favor del hombre, destacaremos su importancia como cicatrizante de heridas.

La herida se puede definir como una disrupción de estructuras anatómicas y funcionales normales a consecuencia de un trauma. Una vez producida la herida, comienza el proceso de cicatrización que es un proceso de reparación ordenado con una secuencia de eventos biológicos establecidos, dentro de un tiempo determinado, que intenta devolver la integridad anatómica, funcional y estética de los tejidos lesionados dejando una cicatriz².

Este trabajo de investigación se realizó con la finalidad de demostrar mediante estudios farmacológicos el efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” en la piel de ratas. Siendo así una alternativa medicamentosa para el tratamiento de heridas en la piel; con mayor relevancia social en el área de salud y las poblaciones en general; quienes vienen a ser los más beneficiados al tener una opción para estos casos; ya que podrán optar por este producto mejorando el aspecto de la cicatriz; teniendo un menor tiempo de cicatrización como también un mejor aspecto en cuanto a la consistencia de la cicatriz.

En la actualidad no hay estudios ni evidencias de formas farmacéuticas elaboradas a partir de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” y que tenga un efecto cicatrizante, motivo por el cual se elabora el presente trabajo.

La forma farmacéutica semisólida- crema a base del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” nos permite contar con una alternativa medicamentosa para el tratamiento en la cicatrización de heridas; para lo cual se han planteado los siguientes objetivos:

Objetivo general

Demostrar el efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” en ratas albinas

Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios en el extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”.
- Determinar los parámetros fisicoquímicos del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”.
- Evaluar el efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”, en la piel de ratas albinas.
- Realizar una comparación histopatológica en la piel de las ratas de los grupos de estudio (blanco; estándar, tratamiento al 1 %, 2 % y 4 %).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio

Carbonell³ en el año 2014 en su libro Punicalagina. Antioxidante natural de la granada. Nos menciona que la granada presenta una gran variedad de compuestos orgánicos de alto valor biológico, Dependiendo de la parte del fruto (corteza o piel, membranas carpelares, arilos y semillas). Al rededor del 50 % de peso total de la granada corresponde a la corteza y las membranas carpelares, el otro 50 % consiste el conjunto de los arilos (80 % parte carnosa donde se encuentra el zumo y 20% semilla o parte leñosa). La granada presenta vitaminas hidrosolubles y liposolubles tales como la vitamina C, A, E, B₆ y K. El zumo de granada es rico en minerales como calcio, magnesio, potasio, hierro, cobre.

Melgarejo⁴ en el año 2010 en la I Jornadas nacionales sobre el granado: Producción, economía, industrialización, alimentación y salud. Nos refiere que la cáscara de la granada contiene un gran porcentaje de taninos que hace que se emplee tanto en medicina como en la industria del curtido de pieles, particularmente para hacer pieles en Marruecos. También se emplea en Túnez la corteza de la granada para teñir de amarillo tejidos y otras fibras. Los taninos se encuentran en el pericarpio del fruto y también de la corteza del granado y fueron utilizados contra las diarreas.

En otro estudio realizado por Montón¹, en el año 2006; que lleva por título "Validación de un nuevo método de análisis digital de superficies. Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana"; validó un método de análisis digital de superficies; utilizando como herramienta AutoCAD 2005. Se basa en adquirir imagines digitales con un sistema de referencia que permite, tras procesarlas en un ordenador personal; concluye en que es posible calcular áreas, determinar regiones, comparar estructuras, mediante el uso de AutoCAD 2005 para el análisis digital de superficies.

En un estudio realizado por Gutiérrez⁵ en el año 2005, titulado “Modelo para la valoración cuantitativa de la cicatrización. Estudio piloto con miel de abeja”. Realizó un estudio piloto con miel de abeja y solución fisiológica en ratas, mediante el método de análisis de superficies, del cual concluye dos puntos importantes; primero, que la miel de abeja aceleró la cicatrización; segundo que este un método factible y reproducible y confiable para valorar cuantitativamente la cicatrización de heridas superficiales.

García-Viguera⁶ en el 2004 en su trabajo de investigación titulado: La granada. Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías. Nos menciona que: La importancia de los compuestos fenólicos de la granada es doble, ya que por un lado son responsables de sus características organolépticas, fundamentalmente de su atractivo color rojo y de su capacidad captadora de radicales libres, lo que hace que este grupo de sustancias sea, hoy día, incluido entre los potenciales promotores de la salud.

Romero⁷ en el año 2017; en su trabajo de investigación titulado Efecto inhibitorio *in vitro* de extractos etanólicos de la cáscara de *Punica granatum* “granada” y *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae*. Lambayeque – Perú. Logra observar que a mayor concentración de sus diferentes extractos estos presentaron mejor efecto inhibitorio. Concluye que la especie más susceptible a los extractos etanólicos de Clavo de Olor y Granada fue *Staphylococcus aureus* y la que presentó menos susceptibilidad fue *Pseudomonas aeruginosa*.

Gutiérrez y Terrones⁸ en el año 2016 realizaron la Caracterización fisicoquímica y estabilidad oxidativa del aceite de semilla de “granada” (*Punica granatum*). Ancash- Perú. La extracción del aceite de semilla de *Punica granatum* se realizó por extracción mecánica; prensado en frío al cual se le realizaron los ensayos para su caracterización fisicoquímica tales como viscosidad, densidad, como subproducto de la extracción del aceite se obtuvo de la torta a la cual se evaluó el contenido de fibra soluble 0.91 %, fibra insoluble 67.46 %, fibra total 68.45 %.

Palma⁹ en el año 2016 en Trujillo – Perú; realizan la “Cuantificación espectrofotométrica de los taninos totales en el epicarpio de *Punica granatum* L., procedente del distrito de Chimbote – Ancash”; donde concluye que el epicarpio de *Punica granatum* L “granada” procedente del distrito de Chimbote Ancash contiene 38,9803 % de taninos totales expresados como ácido tánico.

Vásquez¹⁰ en el año 2016; en su informe de proyecto de investigación: "Condiciones óptimas de extracción de antocianinas de la cáscara de la granada *Punica granatum L.* variedad Wonderful". Lima - Perú. Obtuvo mayor concentración de antocianinas 158.8 mg/100 g de piel de granada en base seca y 46.1 mg/100 mg de piel de granada en base húmeda. Utilizó la fórmula de Gorriti para hallar las antocianinas en maíz morado, la cual se aplicó para hallar las antocianinas de la cáscara de granada.

Arbayza¹¹ en el 2014 en su trabajo de investigación titulado: Capacidad antioxidante del zumo y de los extractos hidroalcohólico y acuoso obtenidos de *Punica granatum* y su relación con el contenido de polifenoles. Nos refiere que los taninos son, al menos en parte, responsables de una fuerte actividad antioxidante. También es conocido que los taninos tienen propiedades antiinflamatorias, antidiarreicas y cicatrizante de heridas, además, han demostrado actuar inhibiendo algunas funciones enzimáticas específicas. El granado ha sido cultivado desde tiempos muy remotos, ya que se han encontrado indicios del consumo de esta fruta en tumbas egipcias de 2500 años antes de la era cristiana. Se cree que fueron los cartagineses los que introdujeron el granado en la región mediterránea a raíz de las guerras Púnicas (de ahí el nombre *Punica granatum L.* "granada", propuesto por Linneo) y fueron los españoles los que la llevaron a América, tras el descubrimiento de aquellas tierras.

Cárdenas¹² en el año 2013 en su trabajo de investigación titulado: Efecto de la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Punica granatum L.* "granada" sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* In vitro. Trujillo – Perú. Inicio con la maceraron de las hojas *Punica granatum L.* "granada" en una solución hidroalcohólico al 70%, se concentró con un rotavapor, utilizo el método de difusión en placa de Kirby Bauer, un control positivo de vancomicina y como control negativo agua destilada. Las concentraciones fueron a 50, 100, 200 y 400 mg / mL; todas presentaron actividad inhibitoria siendo el extracto a 200 mg / mL la que presento un mejor efecto. Demostrando así que las hojas de *Punica granatum L.* "granada" si presentan actividad inhibitoria frente al *Staphylococcus aureus*.

Aguilar¹³ en el año 2017 realizó el trabajo de investigación titulado: Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (HBK) D.C. "manayupa". Ayacucho 2017. Empleando el programa de AutoCAD

(método propuesto por Monton³). Donde utilizó como estándar a dos cremas comerciales Traumaplant y Dermaside, frente a sus tratamientos al 1 %, 2 % y 4 % y teniendo como blanco un gel base; demostrando que a los 16 días de tratamiento el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (HBK) D.C. “manayupa” si presentan efecto cicatrizante; siendo el tratamiento al 4% el que presenta mejor cierre para esta investigación; en el cual fue estadísticamente similar al estándar Traumaplant, quedando el Dermaside segundo estándar rezagado por presentar efecto antibacteriano.

Canahualpa¹⁴ en el año 2016 en su trabajo de investigación titulado: Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. “Kimsa cucho”. Ayacucho – Perú. Utiliza el método de cicatrización descrito por Howes; utilizo como medicamento de referencia el Dermaclín plus. Demostrando que a mayor concentración su extracto presenta mayor efecto cicatrizante siendo el tratamiento al 4% presenta mejor efecto cicatrizante y este es estadísticamente similar al Dermaclín plus.

Sánchez¹⁵ en el año 2016 realizó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Onothera rosea* “yawar soqo”. Empleando el programa de AutoCAD (método propuesto por Monton⁵). Demostrando que la valoración de una herida puede llevarse a cabo por medio de un análisis fotográfico empleando técnicas de procesamiento digital; siendo un método no invasivo para el seguimiento del proceso de cicatrización.

Pérez¹⁶ en el año 2015 realizó un estudio sobre la actividad cicatrizante del *Solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”; utilizando el extracto hidroalcohólico; a las concentraciones de 1,0; 2,0 y 4,0 %; teniendo como vehículo la forma farmacéutica de crema, aplicado en su unidad experimental ratas. Concluyendo que el resultado es estadísticamente similar con los tres tratamientos; teniendo como resultado trece días para el cierre de la herida.

Mientras que Cuadros¹⁷ en el año 2012 realizó estudios sobre la actividad cicatrizante del *Solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”; utilizando el extracto hidroalcohólico; a las concentraciones del 0,5; 1,0 y 2,0 %; teniendo como vehículo el gel; aplicado en su unidad experimental ratas winstar. Concluyendo que al 2 % se presenta un mayor efecto de cicatrización y mejor disminución del área de la herida a partir de los 8 días; siendo estas áreas estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) al blanco (gel) y al estándar (Dermaclín plus).

2.2. Aspectos botánicos de *Punica granatum* L. “granada”

2.2.1. Clasificación Taxonómica de *Punica granatum* L. “granada”:

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE : ROSIDAE

ORDEN : MYRTALES

FAMILIA : PUNICACEAE

GÉNERO : *Punica*

ESPECIE : ***Punica granatum* L.**

N.V. : “granada”

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. (Anexo 1).

2.2.2. Otros nombres

Los diferentes nombres con que se conoce el fruto en diversas partes del mundo son “pomegranate” en inglés, “grenade” en francés, “granaatappc” en holandés, “granatapfcl” en alemán, “melogranato”, “melograno granato”, “pomo granato”, o “pomo púnico” en italiano. Los brasileños lo conocen como “roma”, “romeira” o “romazeria”¹¹.

2.2.3. Sinonimia botánica

Punica florida Salisb.; *Punica grandiflora* hort. ex Steud.; *Punica nana* L.; *Punica spinosa* Lam.; *Punica granatum* var. *granatum* L.; *Punica granatum* var. *sativum* K.Malý; *Granatum puniceum* St.-Lag.

2.2.4. Distribución geográfica

Desde el punto de vista botánico es el fruto del granado, pequeño árbol caducifolio, a veces con porte arbustivo, de 3 a 6 m de altura, perteneciente a la familia de las Punicaceae. Las hojas son de color verde brillante, lustrosas por el haz y con el borde entero. Las flores (floración entre mayo y julio) son grandes y de color rojo, lustrosas y acampanadas, incluso, abigarradas y matizadas en blanco, en algunas variedades. Todas estas características morfológicas hacen que este árbol sea muy apreciado en jardinería como ornamental, ya que tampoco requiere cuidados especiales⁶.

El fruto es una baya globosa, denominada balausta, de color rojo brillante, verde amarillento o blanquecino, coronado por un cáliz de 5-8 cm de diámetro, lleno de semillas y de cáscara coriácea. Las semillas son gruesas, de consistencia leñosa y testa carnosa o pulposa, de forma prismática, muy jugosas, color que varía

desde el apreciado rubí intenso hasta blanco y sabor agridulce que puede recordar ligeramente al de las grosellas⁶.

La granada se caracteriza por tener un fruto de forma globosa de aproximadamente 6 a 12 centímetro de diámetro; con un cáliz en forma de corona. Su corteza va de color amarillo rojizo a verde con zonas rojizas e inclusive al rojo escarlata, es delgada y correosa, cubre una gran cantidad de granos, ordenadamente distribuidos, jugosos y con un sabor que va de agridulce al dulce dependiendo de la variedad. Los granos están separados por delgados tabiques membranosos de cualidad astringente. Cada grano contiene como centro una semilla blanquecina de estructura firme, cuya dureza varia¹⁸.

2.2.5. Usos tradicionales

En nuestro país la granada se utiliza como árbol frutal y además como ornamental en pequeños jardines; pero también en medicina complementaria en el tratamiento de una gran variedad de enfermedades como diarrea, gastroenteritis, colitis, gingivitis, amigdalitis faringitis, así como por su acción vermífuga tomada en forma de infusión¹¹.

En México este fruto se consume en fresco y se usa en la elaboración de postres, así como en la decoración del platillo de identidad nacional denominado chiles en nogada. Otro de los usos más importantes es la herbolaria tradicional; así las hojas y el tallo se utilizan para tratamientos antidisentéricos, la pulpa y el pericarpio como antidisentéricos, y antidiarreicos la raíz como astringente y antihelmíntico. El pericarpio, hojas, tallos y raíz se consumen como infusión; las infusiones de flores se utilizan en tratamiento de inflamación bucal y de la garganta⁶.

2.2.6. Otros usos

En la India además de su aplicación como dentífrico y en la tinción de telas. Se aplica en la producción de bebidas refrescantes, carbonatadas y no carbonatadas, vinos y jarabes⁶.

En Turquía se consume principalmente como jugo, pero tiene otro tipo de aplicaciones importante como la fabricación de ácido cítrico, conservas enlatadas y en la alimentación animal y entre otro⁶.

La cáscara de la granada contiene un gran porcentaje de taninos que hace que se emplee tanto en medicina como en la industria del curtido de pieles, particularmente para hacer pieles en Marruecos. También se emplea en Túnez la corteza de la granada para teñir de amarillo tejidos y otras fibras¹⁸.

El zumo se emplea como antiséptico cuando se aplica a las heridas. El zumo de granada es una bebida muy popular en Oriente Medio y es muy utilizado en la cocina siria, iraní e hindú. El jarabe de granadina es un zumo concentrado y azucarado que se emplea para hacer cocktails⁴.

Las semillas desecadas se emplean como especia, en la cocina hindú y pakistaní recibiendo el nombre de anardana⁴.

2.2.7. Composición química

Gran parte de su importancia organoléptica y posible papel beneficioso para la salud, se debe a la presencia de compuestos fenólicos, ya que, a nivel organoléptico, los antocianos son los responsables de su atractivo color rojo y los taninos de su sabor astringente (siendo los ácidos orgánicos, cítrico y málico, los responsables del sabor acidulado), mientras que los elagitaninos y, en menor proporción, los antocianos le confieren propiedades antioxidantes⁶.

Unos de los aspectos que ha cobrado importancia en los últimos años son el contenido de sustancias antioxidantes tales como fenoles y antocianinas de la granada¹⁸.

Usando métodos analíticos se ha detectado la presencia de compuestos antioxidantes prácticamente en todas partes del árbol de granado: corteza, raíz. Hojas, flores y fruto (cáscara, jugo y semillas). La presencia de compuestos fenólicos en el pericarpio, está relacionada con sus características antimicrobianas, aspecto que es revelado en el espectro *In vivo*, así como *In vitro* de extractos¹⁹.

2.3. Metabolitos secundarios que intervienen en la cicatrización

2.3.1. Taninos

Los taninos están constituidos por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica, capaces de precipitar ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa, gelatina)¹⁹.

2.3.1.1. Propiedades Físicoquímicas¹⁹

- Curtido de piel; los taninos se intercalan entre las fibras de colágeno, estableciendo uniones reversibles (interacciones hidrófobas, enlaces hidrógenos, etc.) e irreversibles (enlaces covalentes). Dichas fibras adquieren así una gran resistencia frente al agua y el calor y la piel se convierte en cuero.
- Precipitación de otras macromoléculas; los taninos son capaces de reaccionar con las proteínas salivares y las glucoproteínas de la boca, por lo que la saliva pierde su poder lubricante y se obtiene un efecto astringente.

- Solubilidad; son solubles en agua (forman soluciones coloidales) y en disolventes orgánicos polares (acetona, alcohol, glicerina) pero son insolubles en disolventes orgánicos apolares (éter etílico, cloroformo).
- Capacidad de formar complejos (son agentes quelantes) con metales pesados (cobre, mercurio, plomo, cinc, etc.) por esta razón en ocasiones se utilizan como antídoto de intoxicaciones causadas por estos metales pesado.
- Estabilidad; son moderadamente estables. Los taninos hidrolizables se hidrolizan fácilmente en medio ácido mientras que los taninos condensados son más resistentes al hidrolisis. No obstante, algunos de sus enlaces pueden romperse y polimerizar dando productos de intenso color rojo.

2.3.1.2. Clasificación

- **Taninos Hidrolizables**

Son ésteres formados por una molécula de azúcar (generalmente la glucosa) unida a un número variable de moléculas de ácidos fenólicos (ácido gálico o su dímero ácido elágico). Los taninos hidrolizables son característicos de las dicotiledóneas. Se hidrolizan tanto por hidrolisis ácida o básica como por hidrólisis enzimática. Al tratar los taninos hidrolizables con cloruro férrico (FeCl_3) aparece una coloración azul¹⁹.

- **Taninos condensados: (catequicos o proantocianidinas)**

Son dímeros o polímeros flavánicos con uniones carbono - carbono entre las diferentes unidades de flavan-3-ol. Se forman por polimerización de las catequinas y leucoantocianos. Además de encontrarse en dicotiledóneas se producen también en helechos y gimnospermas. Son muy resistentes a hidrolisis. Solo resultan afectados por hidrolisis ácida o enzimática (que rompe ciertos enlaces y se convierten en antocianidinas. Por destilación seca produce catecol (1,2-dihidroxibenceno). Por este motivo reciben en el nombre de taninos catequicos. Al tratar los taninos condensados con cloruro férrico (FeCl_3) aparece una coloración verde¹⁹.

2.3.1.3. Usos¹⁹

- Antídoto en intoxicaciones por metales pesados y alcaloides; debido a su capacidad para formar estructuras complejas con estas sustancias.
- Astringente; debido a su capacidad para precipitar proteínas de la piel (curtido de la piel), proteínas salivares, etc. Por sus propiedades astringentes se usa por vía externa como cicatrizantes y por vía interna como antidiarreico. Su efecto antidiarreico lo ejercen en el intestino.

- Antisépticos; tienen una acción bactericida y bacteriostática. También ejercen su acción antifúngica.
- Protectores; los taninos aplicados en pomadas de uso externo impermeabilizan la piel y la protegen de agentes externos. Si hay una cicatriz favorecen a la regeneración (reepitelizantes) y tiene poder analgésico. Aplicándolo sobre una herida abierta puede tener poder hemostático (antihemorrágico). Los taninos condensados son protectores de la pared venosa y hemostáticos y se usan en supositorios antihemorroidales.
- Antioxidantes; son capaces de captar radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica. Inhiben la autoxidación del ácido ascórbico (Vitamina C).

2.3.2. Flavonoides

Los flavonoides están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores y se encuentran distribuidos en los vegetales superiores y se encuentran prácticamente en todas las plantas superiores; sobre todo en partes aéreas: hojas, flores, frutos. Algunos flavonoides son responsables del color amarillo de ciertas flores¹⁹.

2.3.2.1. Usos de los flavonoides

Acción de la vitamina p (factor antiescorbútico), antihemorrágicos, antiarrítmicos, protector de la pared vascular o capilar, antiinflamatorios, antiradicales libres, antihepatotóxicos, antibacterianos, antivíricos y antifúngicos, diuréticos y antiurémicos, antiespasmódicos¹⁹.

2.4. Piel

La piel no es una simple envoltura protectora del cuerpo; es una frontera activa que se interpone entre el organismo y el ambiente. No solo controla la pérdida de fluidos valiosos, evita la penetración de sustancias extrañas y nocivas²⁰.

2.4.1. Composición²

- Epidermis: constituye el 5 % del espesor de la piel y mide 0,04 – 1,5 mm (mayor en palmas y plantas). Está formada por un epitelio escamoso estratificado con las siguientes capas de afuera hacia adentro: córnea, lúcida, granulosa, espinosa y basal.
- Dermis: constituye el 95% del espesor total de la piel. Está formada por tejido conectivo que contiene las estructuras nerviosas, vasculares y apéndices cutáneos.
- Celular subcutáneo: capa más interna de la piel compuesta por adipocitos separados por tabiques fibrosos.

- Anexos cutáneos: se originan de la epidermis y están contenidos en la dermis. Son los siguientes elementos: complejo pilosebáceo, glándulas apócrinas, glándulas endocrinas (o sudoríparas) y uñas.

2.4.2. Funciones²

Es el órgano más grande en el humano (1,5 - 2 m²) y su integridad es fundamental para la supervivencia.

Las funciones más importantes son: barrera y protección, regulación de la temperatura, equilibrio hidro-salino y ácido-base, producción de melanina, función inmunológica, reparación de heridas e identificación personal.

2.5. Herida²

Se puede definir como una disrupción de estructuras anatómicas y funcionales normales a consecuencia de un trauma.

2.5.1. Tipos de Herida²

- **Herida aguda:** Herida que sigue un proceso de reparación ordenado que restaura la integridad anatómica y funcional.
- **Herida crónica:** Heridas que no siguen un proceso de reparación ordenado o que siguen un proceso de reparación que no restaura la integridad anatómica y funcional.

2.5.2. Tipos de cierre de una herida²

a. Cierre de heridas de espesor total

- **Primario o por primera intención:**
La herida es cerrada dentro de las primeras horas tras su creación. Cierre de la herida por aproximación (sutura), injerto o colgajo. Sigue las tres etapas clásicas de cicatrización (inflamación, proliferación y remodelación)².
- **Secundario o por segunda intención:**
La herida es dejada abierta para que cierre en forma espontánea. Se mantiene en la fase inflamatoria hasta que cierre totalmente. Los procesos involucrados son la contracción y la epitelización. En ocasiones es útil el cierre secundario y programar un retoque o plastia una vez madurada la cicatriz².
- **Terciario o por tercera intención o primario retardado:**
La herida es cerrada después de varios días del traumatismo. Útil después de pasado el riesgo de infección en heridas contaminadas (cultivo negativo). El proceso no se altera y la fuerza ténsil obtenida al final es la misma que con el cierre de primer grado².

b. Cierre de heridas de espesor parcial

Las heridas que afectan la capa superficial de la piel (epidermis y dermis papilar) cicatrizan por epitelización. Las células epiteliales de las glándulas sebáceas y folículos pilosos se dividen y migran para cubrir el defecto. Hay mínima formación de colágeno y escasa contracción².

2.6. Cicatrización

Una vez producida la herida, comienza el proceso de cicatrización que es un proceso de reparación ordenado con una secuencia de eventos biológicos establecidos, dentro de un tiempo determinado, que intenta devolver la integridad anatómica, funcional y estética de los tejidos lesionados dejando una cicatriz².

2.6.1. Tipos de cicatrización²

Cicatrización ideal: aquella que devuelve la normalidad anatómica, funcional y apariencia, sin cicatriz externa (cicatrización fetal).

Cicatrización aceptable: aquella que deja cicatriz, pero que devuelve la continuidad anatómica y funcional.

Cicatrización mínima: aquella que deja cicatriz y que devuelve la integridad anatómica sin lograr buenos resultados funcionales y que, por lo tanto, recurre con frecuencia.

Cicatrización ausente: aquella en la cual no se logra restaurar la integridad anatómica a pesar de todas las terapias disponibles (úlceras incurables).

2.6.2. Etapas de la cicatrización²

A. Inflamatoria

- Duración: 0 a 4 días en cierre de primer grado, se prolonga en cierre de segundo y tercer grado.
- Respuesta vascular: vasoconstricción inicial y luego, vasodilatación y aumento de la permeabilidad (control de hemorragia inicial y luego estimula la migración celular).
- Respuesta hemostática: agregación plaquetaria y activación de la cascada de coagulación (control de la hemorragia).
- Respuesta celular: primero Polimorfonucleares (PMNs) y luego mononucleares (macrófagos y linfocitos). Limpieza de la herida.
- Traducción clínica: rubor, tumor, calor, dolor.
- Mientras más prolongada esta fase, más cicatriz se obtiene y de peor calidad.
- Al final de esta fase se recupera el 10 % de la fuerza ténsil².

B. Fibroblástica (proliferativa)

- Duración 5 a 40 días.
- Reparación de tejido conectivo (síntesis de colágeno y matriz extracelular por fibroblastos).
- Angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos).
- Epitelización (migración celular desde bordes de la herida).
- Reparación de tejidos especiales (hueso, cerebro).
- Contracción: aproximación de bordes por miofibroblastos, ocurre a lo largo de la herida y no, a lo ancho. Es más intensa en cicatrizaciones secundarias y en heridas infectadas.
- Contractura: contracción excesiva sobre una articulación. En heridas curvas, el tejido dentro de la herida se levanta por efecto de la contracción.
- Al final de esta fase se recupera el 60 % de la fuerza ténsil².

C. Maduración (remodelación)

- 40 días hasta varios años, evolución variable (promedio 6 meses en adultos y más en niños).
- Se ordena el colágeno (síntesis = degradación). Desaparecen los capilares, el colágeno se engruesa y se van los fibroblastos (cicatriz acelular), disminuyen los glicosaminoglicanos y el contenido de agua.
- Traducción clínica: la cicatriz se ablanda y aplanada, desaparece el eritema y el prurito (cicatriz madura).
- Se recupera hasta el 80 % de la fuerza ténsil (nunca se llega al 100 %)².

2.7. Administración sobre piel y mucosas

Sobre la piel se aplican, ya sea con fines terapéuticos o cosméticos, numerosas formulaciones de diversa naturaleza fisicoquímica.

Las formas de consistencia semisólida constituyen, sin embargo, el grupo más amplio dentro de las formulaciones de aplicación sobre la piel y diversas mucosas²¹.

Los sistemas semisólidos satisfacen una exigencia de las preparaciones de aplicación tópica, ya que, en general, poseen buena adherencia, lo que hace que permanezcan sobre la superficie de aplicación por un tiempo razonable hasta que se eliminan por lavado. Sus propiedades se deben a su comportamiento reológico de tipo plástico, según el cual los semisólidos mantienen su forma y se adhieren como una película, pero cuando se aplica una fuerza externa sobre ellos se deforman con facilidad y fluyen (capacidad de extensión)²¹.

2.8. Crema

Son formas farmacéuticas semisólidas emulsionadas que contienen uno o varios principios activos y hasta un 80 % de agua. Este término se ha aplicado tradicionalmente a los semisólidos que poseen una consistencia relativamente fluida formulados ya sea como una emulsión agua en aceite o aceite en agua²².

2.7.1. Las características de los excipientes²¹

- Deben ser bien tolerados y no manifestar acciones que los inhabiliten (irritantes, sensibilizantes).
- Tienen que ser inertes frente al principio activo que incorporan (compatibilidad física y química), así como frente al material de acondicionamiento.
- Han de ser lo suficientemente estables frente a los factores ambientales como para garantizar su conservación.
- Deben presentar una consistencia conveniente para que su extensión sobre la piel o las cavidades mucosas se realice con facilidad y, además, puedan dispensarse en tubos.
- En determinados casos (pomadas oftálmicas) se requiere que sean esterilizables.
- Deben ceder adecuadamente el principio activo que incorporan.
- En la medida de lo posible, tienen que presentar caracteres organolépticos no desagradables.

2.9. Fármaco referencia²³

Extracto concentrado de consuelda: 25 g de *Symphytum peregrinum* (Traumaplant 10 %). El complejo de sustancias activas de la crema Traumaplant se obtiene de la consuelda recientemente cosechada. se trata de una planta muy difundida y originaria de la Rusia meridional, que tradicionalmente se ha empleado en medicina. (ANEXO 2)

Los ingredientes farmacológicamente activos de dicho complejo estandarizado y muy concentrado se aíslan con la debida precaución del extracto de consuelda recién obtenida: la colina, el ácido de romero y la alantoína producen un efecto antiinflamatorio, antiexudativo y cicatrizante. A través de las terminaciones nerviosas del sistema parasimpático, la colina ejerce una dilatación vascular que acrecienta la afluencia de sangre a los tejidos inflamatorios. (ANEXO 2)

De este modo, se eliminan los exudados inflamatorios y los productos metabólicos de la zona afectada. Como sustancia vasoactiva que reduce la permeabilidad de los capilares, la colina es responsable en primer lugar de la

acción antiexudativo del Traumaplant. El ácido de romero posee propiedades antiexudativas y una marcada actividad antiinflamatoria. La alantoína estimula la proliferación celular y favorece la regeneración del tejido lesionado. A este componente se debe la acción cicatrizante de Traumaplant, así como la formación más rápida de tejido de granulación. El extracto concentrado de consuelda: 25 g de *Symphytum peregrinum* (Traumaplant 10 %). es usado en golpes y heridas superficiales. Coadyuvante en el alivio del dolor, la inflamación y edema en distorsiones del tobillo. Aplicable también en heridas superficiales ya que mejora la cicatrización. (ANEXO 2)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de investigación

El desarrollo de la presente investigación se realizó en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito-medicamentos del Área Académica de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencia de la salud de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de junio - diciembre 2018.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Constituida por la cáscara del fruto de la especie *Punica granatum L.* “granada”.

3.2.2. Muestra

La muestra que se utilizó fue constituida por 50 g de la cáscara seca y molida del fruto *Punica granatum L.* “granada”. El sistema de muestreo fue por conveniencia. Se realizó la identificación y descripción taxonómica en el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de san Cristóbal de Huamanga.

3.2.3. Unidad experimental

Se utilizó 40 ratas albinas de la cepa Holtzman, de 3 meses de edad; con un peso promedio entre 180 a 250 g, de un solo sexo (hembras); los cuáles fueron elegidos aleatoriamente y teniendo en cuenta que se encuentren en buenas condiciones; los cuales se les acondicionó y aclimató por una semana, con alimentación y agua *at libitum*.

3.3. Diseño metodológico para recolección de datos

3.3.1. Procedimiento de recolección, secado y molienda de la muestra:

La muestra a trabajar fue *Punica granatum L.* “granada” específicamente el extracto fluido de la cáscara del fruto; se tomó la muestra por conveniencia y fueron procesadas de la siguiente manera:

- De 10 kg de fruto de granada se obtuvo 1500 g de muestra seca de la cáscara de granada. Previamente se separó el fruto de la cáscara; se retiró las impurezas que presentó la cáscara.
- Todo su lavado y limpieza se realizó en agua limpia; sin uso de otros solventes.
- El secado se realizó a temperatura de ambiente; en un área ventilada evitando su descomposición; por un periodo aproximado de 1 mes durante ese tiempo se fue reduciendo de tamaño manualmente.
- Una vez seca; se seleccionó las muestras más adecuadas y se procedió a la reducción de tamaño con ayuda de un mortero; se tamizó para homogenizar el tamaño de partícula, (diámetro de luz 0,5 mm).

3.3.2. Preparación del extracto fluido

- Se pesó 50 g de muestra seca y molida; se procedió a agitar la muestra con alcohol de 50° (previamente preparado y medido con el alcoholímetro); se agitó con ayuda de un agitador magnético por una hora a velocidad prudencial y constante (para evitar que el vehículo salpique); luego se dejó reposar por 24 h en todo momento protegida de la luz para ello se cubrió con papel aluminio.
- Se armó el equipo de percolación para colocar la muestra y se agregó 100 mL solvente; se hizo pasar por goteo lento y continuo tres veces a través del equipo y se dejó reposar por espacio de 24 h.
- Pasada las 24 h se obtuvo el extracto por goteo, se midió el volumen obtenido con una probeta graduada y se reservó en un frasco de vidrio ámbar en un lugar fresco a temperatura de ambiente. Luego se agregó 100 mL del solvente al equipo de percolación y se hizo pasar tres veces por el equipo por goteo lento y continuo para luego dejar reposar por 24 h. Se continuó hasta agotamiento de coloración de la muestra. Siendo doce días de extracción por agotamiento obteniéndose aproximadamente 2 L de muestra.
- El extracto fluido obtenido se llevó a baño maría a una temperatura de 50 °C, para eliminar los posibles restos de contenido de alcohol siendo controlado con un alcoholímetro. Finalmente se concentró el extracto a una cantidad de 50 mL. Obteniendo así el extracto fluido con una concentración (1:1); por cada 1 mL de extracto fluido hay 1 g de muestra de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”; presentó un aspecto fluido, olor *sui generis*,

color granate muy intenso, sabor astringente. El alcoholímetro muestra que la presencia de alcohol es nula.

3.3.3. Identificación fitoquímica de los metabolitos secundarios del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”:

Se realizó la identificación fitoquímica cualitativa del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”: para identificar los diferentes metabolitos secundarios. La reacción de identificación se realizó siguiendo la metodología propuesta por según Lock²⁴ (Anexo N° 04).

3.3.4. Evaluación de parámetros fisicoquímicos del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”:

Una vez obtenido el extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” se evaluaron los parámetros fisicoquímicos que a continuación señalamos:

- Características organolépticas: Se tomó 2 mL del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” y colocó en una luna de reloj y se determinó el color; aspecto, sabor y olor.
- Solubilidad/ miscibilidad: Se realizó la determinación de solubilidad/ miscibilidad del extracto fluido de la cascará del fruto de *Punica granatum L.* “granada” agua, alcohol y cloroformo. Para lo cual se tomó 1 mL del solvente a ensayar en un tubo de ensayo; luego se añadió 1 mL de muestra y se agito fuertemente.
- Potenciometría (pH): Se utilizó el pH-metro de mesa; se procedió con lo descrito por el manual de uso y las determinaciones se realizaron a 25 °C; habiendo calibrado previamente el equipo.
- Porcentaje de alcohol: Primero se calibró el equipo del alcoholímetro con alcohol de 96° y luego se procedió a medir el porcentaje de alcohol del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”, con ayuda de una probeta para mejor observación.
- Densidad: Se utilizó un picnómetro de 10 mL; primero se pesó el picnómetro limpio y seco en una balanza previamente calibrada, luego se pesó el picnómetro más agua; y finalmente se pesó el picnómetro más la muestra en estudio extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” Por diferencias de pesos se determinó la densidad relativa.
- Índice de refracción: Para determinar el índice de refracción del extracto fluido de la cáscara de fruto de la cáscara del fruto *Punica granatum L.* “granada” se

utilizó el equipo de Refractómetro. Primero se calibro el equipo con agua y luego se observó la muestra en estudio.

- Sólidos totales: Se determinó los sólidos totales que presentó el extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” Se utilizó el equipo de Refractómetro; previamente se calibro con agua y luego se observó la muestra en estudio.
- Cenizas Totales: Se pesó 3 mL del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” con una desviación de 0,5 mg en un crisol de porcelana previamente tarado. Luego se procedió a calentar suavemente la muestra aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incinero en una mufla entre 700 a 750°C durante 2 horas. Se enfrió el crisol en el desecador y se pesó hasta que el peso se mantenga constante.

3.3.5. Elaboración de las cremas a partir del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” y del blanco

Se procedió a la elaboración de la forma farmacéutica (crema) a tres concentraciones (1 %, 2 % y 4 %); siendo 1 g, 2 g y 4 g de extracto fluido de *Punica granatum L.* “granada” que se pesó y mezcló con crema base c.s.p. 100 g.

La crema base compuesta por una fase oleosa cera Lanette, cetiol y BHT (Butilhidroxitolueno); mientras que la fase acuosa compuesta por conservante, propilenglicol y agua; siendo la fase acuosa la que se añade sobre la fase oleosa agitando constantemente. Se mezcló, envasó y se colocó su respectivo rótulo. Para el caso del blanco se utilizó crema base sin ningún principio activo.

Tabla 1. Proporcionalidad de los excipientes de la crema base.

Fase	Insumo	Concentración
Oleosa	Cera Lanette SX	15,0%
	Cetiol V	10,0%
	BHT	0,10%
Acuosa	Conservante	1,50%
	Propilenglicol	6,50%
	Agua	66,90%
Total		100,0%

Tabla 2. Proporcionalidad de la crema base y el principio activo extracto fluido de la cáscara de *Punica granatum L.* “granada”

Principios activos	1 %	2 %	4 %	Crema Base	pH
Extracto fluido de cáscara de granada 1,0 %	1g				4,54
Extracto fluido de cáscara de granada 2,0 %		2g			4,10
Extracto fluido de cáscara de granada 4,0 %			4g		3,90
Crema base-Lanette C.S.P.	99g	98g	96g	100g	6,62
Total	100g	100g	100g	100g	-

3.3.6. Determinación del efecto cicatrizante, según análisis digital de superficie

Fundamento. Se fundamenta en medir el área (mm^2) de una herida abierta utilizando el programa AutoCAD. Modelo propuesto por Montón¹.

Procedimiento

- Se depiló el lomo de la rata en un área aproximada de 3 cm^2 .
- Se pesó a las ratas y pusieron en jaulas individuales.
- Se anestesió con 1 ml/ 2,5 kg de peso de Pentobarbital Sódico por vía intraperitoneal.
- Se aplicó en pequeñas dosis de lidocaína al 2 % vía intradérmica.
- Luego con una técnica limpia; se realizó una herida cuadrangular de 1 cm^2 ; en la región dorsal de la rata, para lo cual se tomó como referencia una plantilla de plástico con las medidas dadas.
- Se desprendió la piel grasa subcutánea y músculos hasta descubrir la fascia.
- Se administró los tratamientos correspondientes a los animales por un periodo de 16 días.
- Se colocó la rata por debajo del soporte metálico de una cámara digital convencional; a una distancia aproximada de 30 cm.
- Sobre la herida se colocó una regla que servirá como referencia para hallar la escala.
- Se obtuvo fotografías de las heridas inmediatamente después de realizar las heridas a las 0 horas y luego por cada 48 horas; hasta llegar a los 16 días.
- Las fotografías se transfirieron al disco duro de un ordenador personal.
- Utilizando las herramientas del AutoCAD se procedió a la medición del área de las heridas en mm^2 .

3.3.7. Evaluación histopatológica

Se tomaron biopsias de las heridas de los grupos experimentales, control y blanco al día 16 post-escisión; dejando un espacio de 2 cm a cada lado de la herida inicial.

Se procedió a lavar la muestra tomada con formol al 10 % y se colocó en una plancha de Tecnopor extendiendo la muestra; luego se dejó reposar en formol al 10 % por 4 horas para mejor conservación de la muestra.

Las muestras tomadas se llevaron para su evaluación al departamento de Patología Clínica del Hospital Regional “Miguel Ángel Mariscal Llerena” de Ayacucho para realizar un examen histopatológico de tipo comparativo.

Se utilizó hematoxilina y eosina para la tinción. Se evaluó al microscopio el ambiente del tejido cicatrizal y abundancia de cuerpos celulares en está; las cantidades de colágeno y fibras; así como también la calidad de la cicatriz y el orden que seguirán los tejidos.

Se recopiló los resultados en material fotográfico para su posterior comparación, evaluación y análisis.

3.4. Diseño experimental

Diseño Pre prueba – post prueba y grupo control. Los animales de experimentación fueron divididos en 5 grupos, cada grupo conformado por 8 repeticiones y sus heridas serán tratados de la siguiente manera

- Grupo 01: Ratas tratados con crema base (Blanco).
- Grupo 02: Ratas tratados con crema control (Estándar/ Traumaplant®)
- Grupo 03: Ratas tratados con crema del extracto fluido al 1 %
- Grupo 04: Ratas tratados con crema del extracto fluido al 2 %
- Grupo 05: Ratas tratados con crema del extracto fluido al 4 %

Gb	-	Ob
Gs	X	Os
Gn	X	On

Dónde:

- Gb: Grupo blanco
- Gs: Grupo estándar
- Gn: Grupos de los tratamientos
- O : Observación
- X : Estimulo
- - : Ausencia de Estimulo

- Ob: Observación del blanco
- Os: Observación del estándar
- On: Observación de los tratamientos

3.5. Análisis estadístico

Los resultados se expresarán en cuadros y gráfico; expresado en registros fotográficos y figuras que explicarán mejor los resultados. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos se hace a través del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. Las comparaciones se realizaron entre cada tratamiento a través de la Prueba de Duncan mediante el programa SPSS.

IV. RESULTADOS

Tabla 3. Resultados de la identificación fitoquímica del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum* L. "granada". Ayacucho - 2018.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Flavonoides	R. Shinoda	+	Coloración roja
Fenoles y/o Taninos	R. Cloruro férrico (III)	+++	Coloración azul oscuro
Saponinas	Prueba de espuma	++	Formación de espuma
Triterpenos y/o esteroides	R. Lieberman Buchard	-	Coloración rojo-anaranjado
Quinonas	R. Borntrager	-	Precipitado color marrón
Alcaloides	R. Dragendorff	-	No precipita
Antocianinas	NaOH	++	Precipitado color marrón
	HCl	+	Coloración rosada
Catequinas	R. Catequinas	-	Ausente
Lactona y/o cumarina	R. Baljet	+	Precipitado naranja oscuro

Leyenda: (-): Ausente/Ninguno (+): Escasa/Ligera (++) : Bueno/Moderado (+++): Abundante/Intenso

Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum* L. "granada". Ayacucho - 2018.

PARÁMETROS	ENSAYOS	RESULTADOS
Organolépticos	Color	Granate intenso
	Olor	<i>Sui generis</i>
	Sabor	Astringente
	Aspecto	Fluido
Solubilidad/Miscibilidad	Agua	Soluble
	Etanol	Muy soluble
	Cloroformo	Poco soluble
pH	pH-metro	3,37
Porcentaje de alcohol (%)	Alcoholímetro	0
Densidad (g/mL)	Densidad relativa	1,20
Índice de refracción	Refractómetro	1,34
Sólidos Totales (%)	Refractómetro	5,10
Cenizas (%)	Cenizas totales	3,86

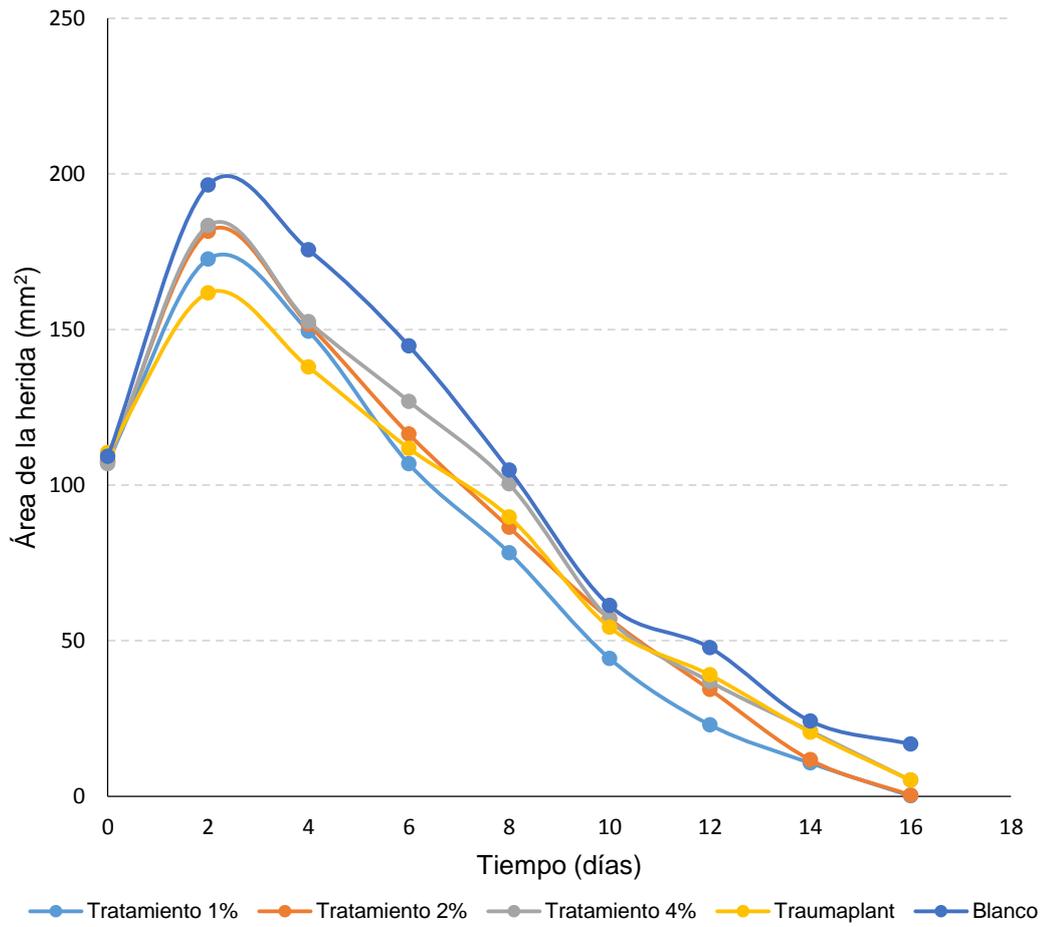
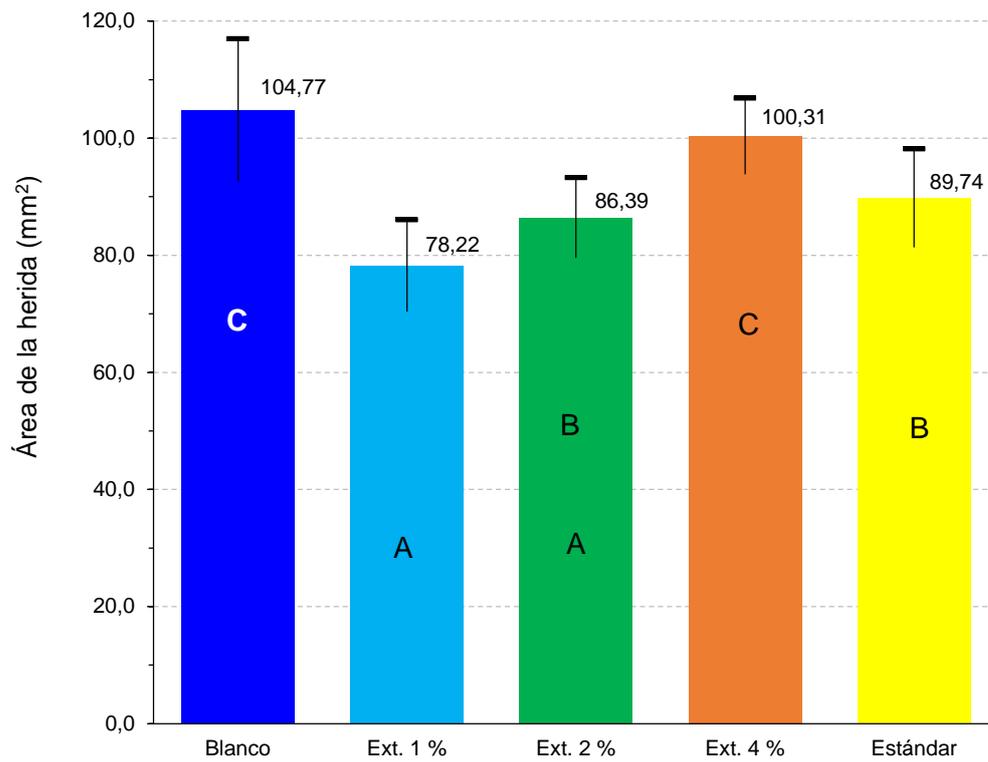


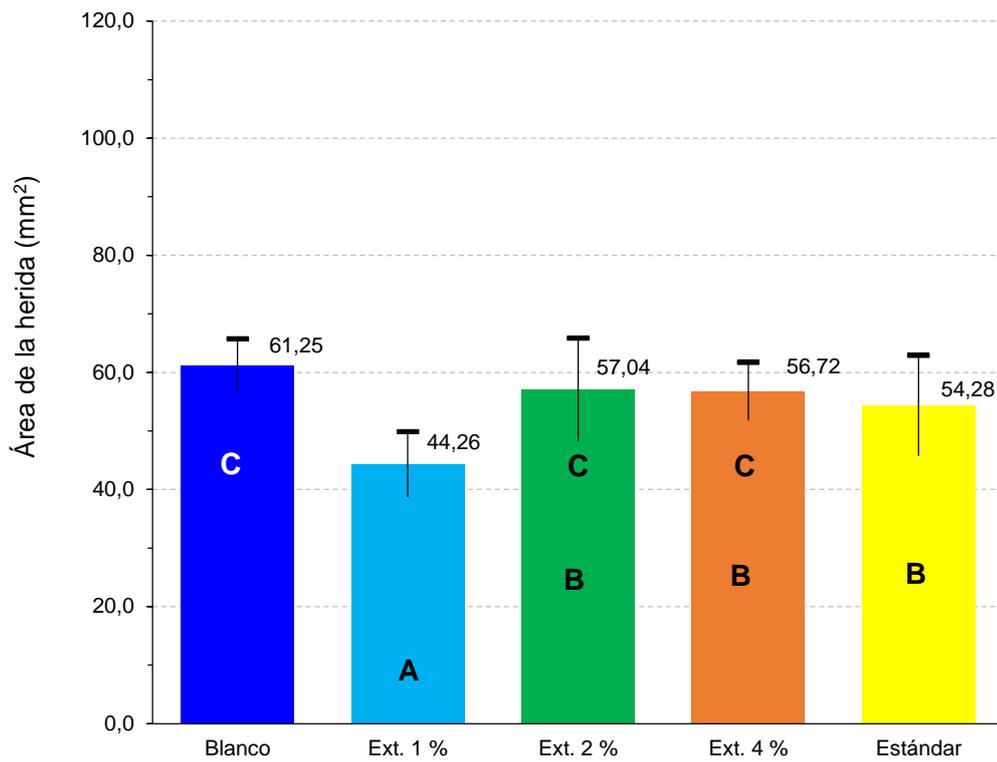
Figura 1. Área de la herida según los tratamientos en función del tiempo por efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* "granada". Ayacucho 2018.



Tratamiento a los 8 días

ANOVA ($p \leq 1,6 \times 10^{-5}$)

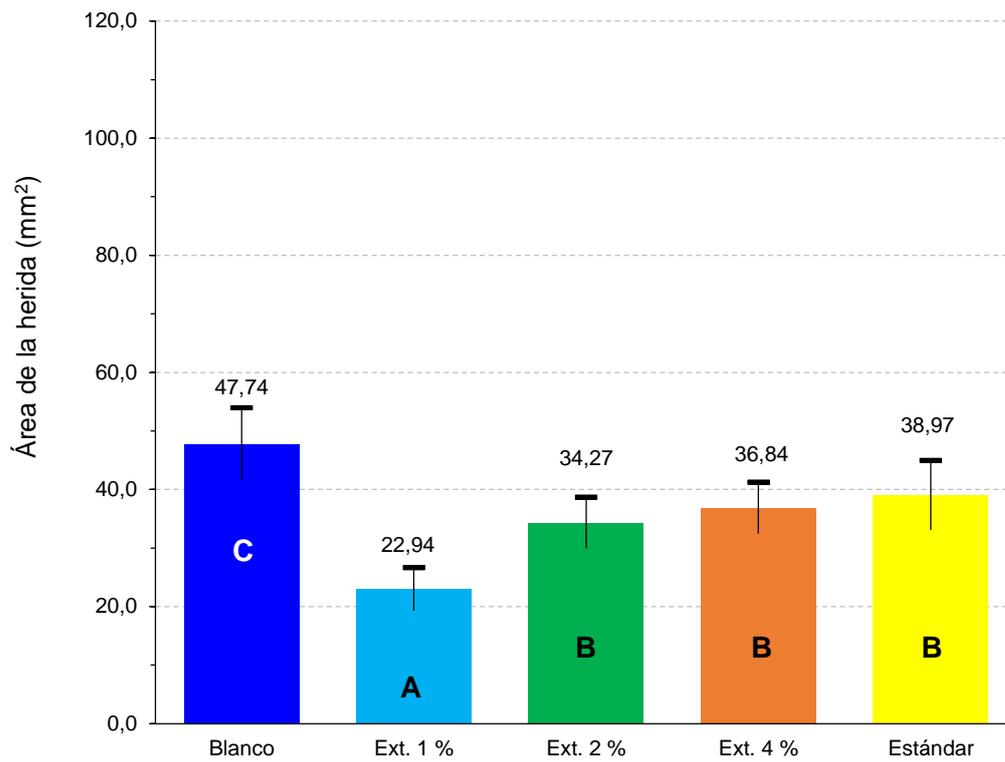
Figura 2. Área de la herida a los 8 días; con los diferentes tratamientos elaborados del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* "granada". Ayacucho 2018.



Tratamiento a los 10 días

ANOVA ($p = 4,22 \times 10^{-4}$)

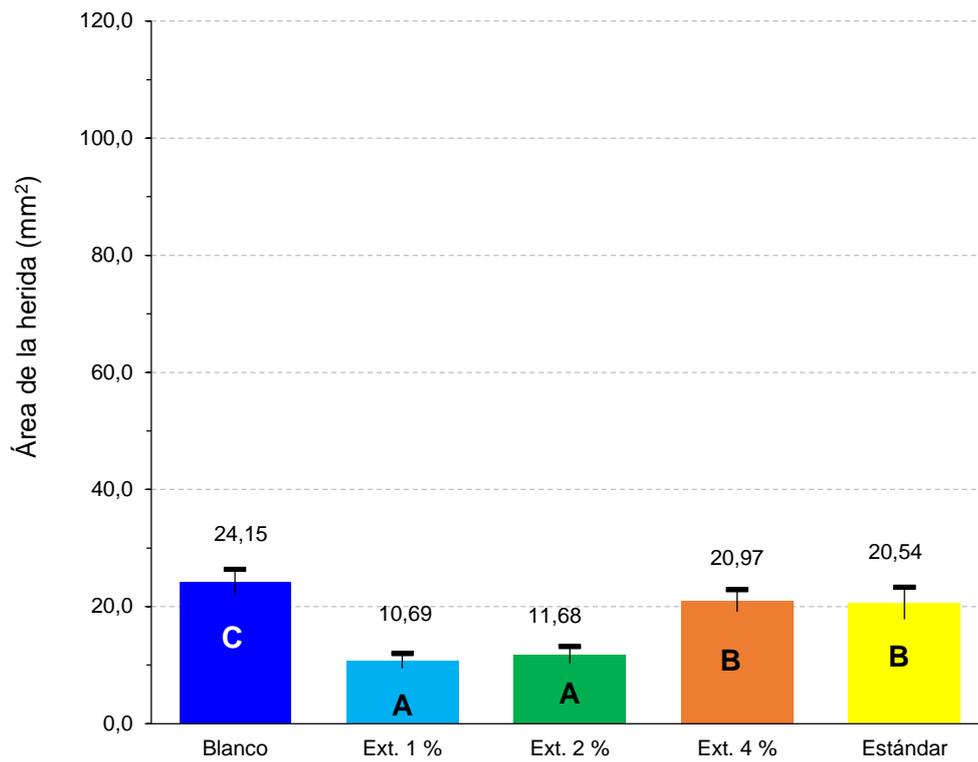
Figura 3. Área de la herida a los 10 días; con los diferentes tratamientos elaborados del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* "granada". Ayacucho 2018.



Tratamiento a los 12 días

ANOVA ($p = 3,32 \times 10^{-7}$)

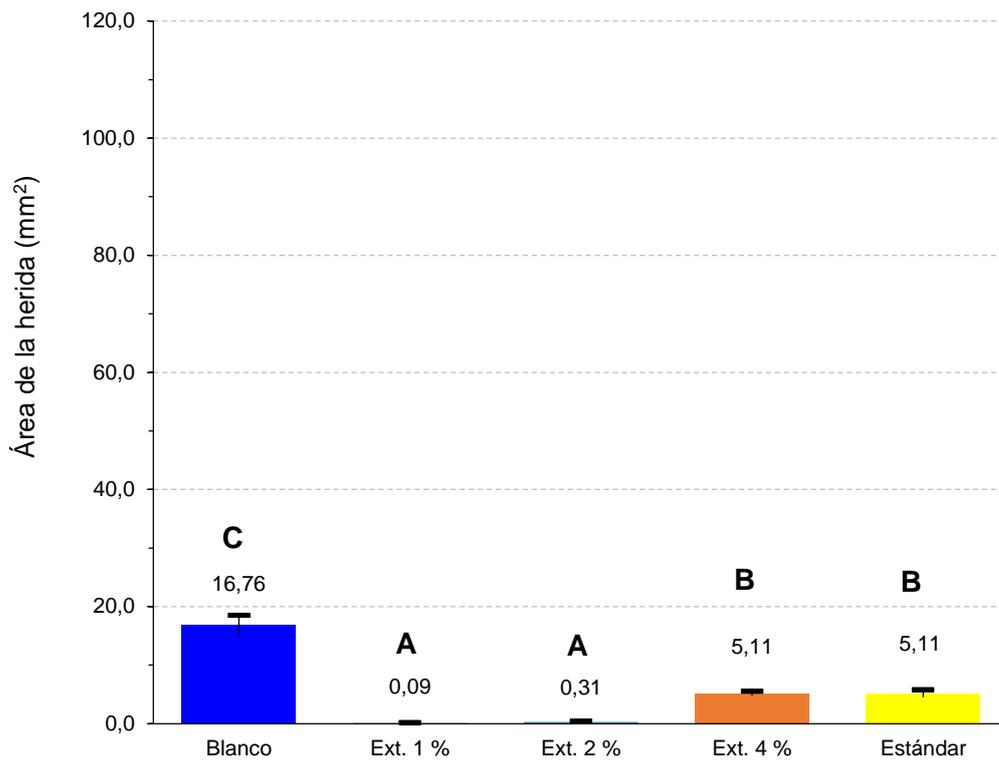
Figura 4. Área de la herida a los 12 días; con los diferentes tratamientos elaborados del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”. Ayacucho 2018.



Tratamiento a los 14 días

ANOVA ($p = 7,64 \times 10^{-12}$)

Figura 5. Área de la herida a los 14 días; con los diferentes tratamientos elaborados del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* "granada". Ayacucho 2018.

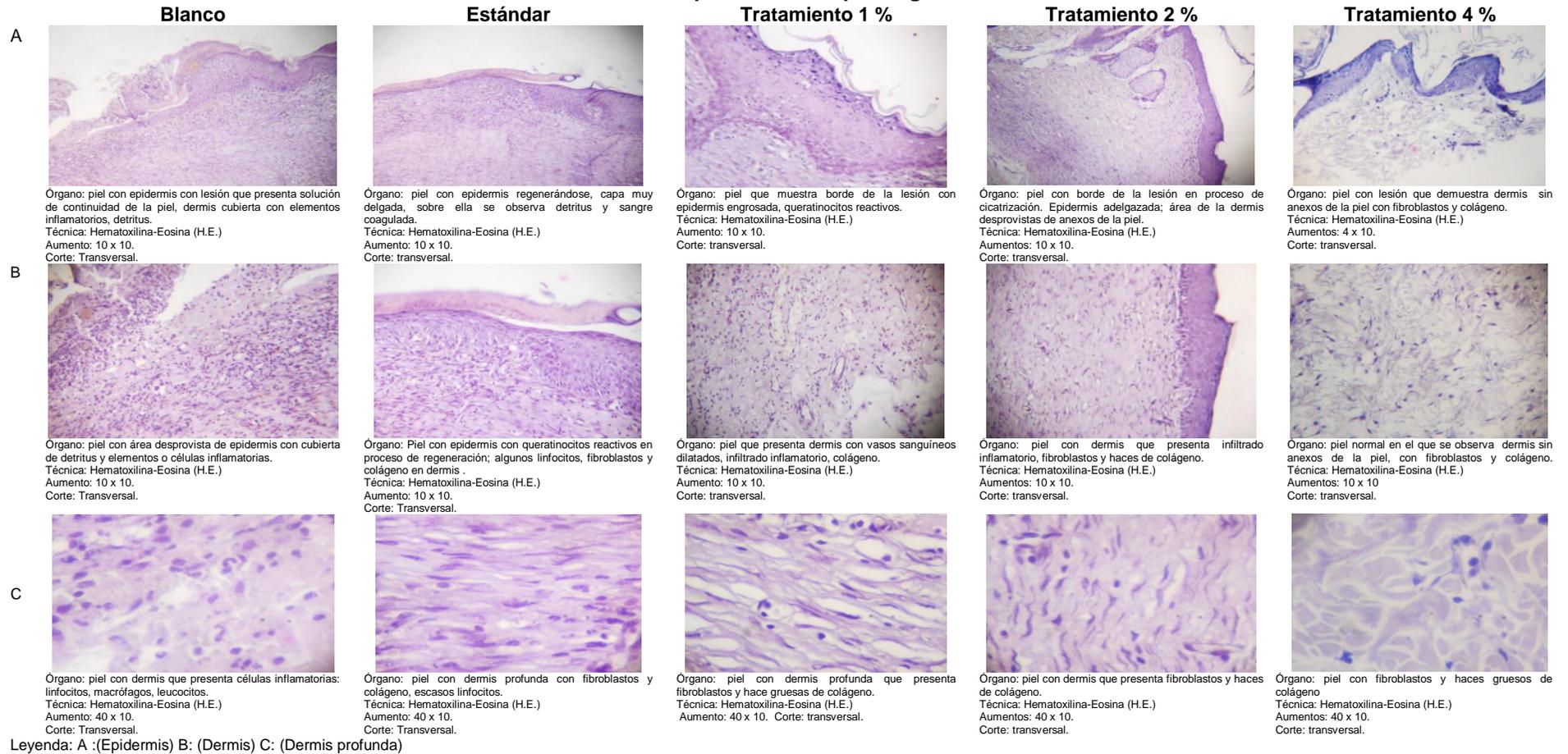


Tratamiento a los 16 días

ANOVA ($p = 6,56 \times 10^{-18}$)

Figura 6. Área de la herida a los 16 días; con los diferentes tratamientos elaborados del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”. Ayacucho 2018.

Comparación histopatológica



Legenda: A : (Epidermis) B: (Dermis) C: (Dermis profunda)

Figura 7. Comparación histopatológica entre el blanco, estándar y tratamientos del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de *Punica granatum* L. “granada” al 1 %, 2 % y 4 % a los 16 días. Ayacucho 2018.

V. DISCUSIÓN

La medicina tradicional es una parte importante y con frecuencia subestimada de los servicios de salud. En algunos países, la medicina tradicional o medicina no convencional suele denominarse medicina complementaria. Históricamente, la medicina tradicional se ha utilizado para mantener la salud, y prevenir y tratar enfermedades²⁵.

La granada *Punica granatum L.* es una fruta llena de propiedades para mantener una salud. Conforme avanzan en las investigaciones se suman cada vez más y más beneficios para la salud a los ya conocidos. La fruta del granado es perfecta para luchar contra el envejecimiento de la piel y es rica en vitaminas y minerales para mantener una vida saludable. Conforme avanzan las investigaciones, se añaden nuevas propiedades de la granada que se suman a las ya conocidas. Las granadas son ricas en vitaminas C, E, A, B1, K y betacarotenos, los encargados de darle su característico color rojo²⁶.

La parte comestible de la granada representa alrededor del 50 % del peso total de una granada y a su vez consiste en un 80 % de arilo (parte carnosa) y un 20 % de semilla (parte leñosa). La cáscara de la granada, comprende entre el 30-40 % del peso total del fruto. Contiene una gran cantidad de compuesto polifenólicos, entre los que destacan los taninos (50-60 g/ kg cáscara). La punicalagina es el elagitanino más abundante en la cáscara, constituye cerca del 80-85 % de los taninos totales presentes en la cáscara¹⁰.

Los “compuestos fenólicos” se refiere a todas aquellas sustancias que poseen varios grupos fenol unidos a estructuras aromáticas. Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal y son los principales metabolitos secundarios de las plantas, que destacan por sus propiedades antioxidantes. Se pueden dividir en moléculas simples (de bajo peso molecular) y polímeros de estas (de mayor peso molecular). Los taninos son el grupo de polifenoles de alto

peso molecular más característico en la granada sobre todo en la piel, rico en taninos hidrolizables, principalmente punicalina, pedunculagina y punicalagina³. Comprender de qué manera el organismo humano repara el tejido dañado y los factores que influyen en este proceso ayuda al cirujano y los médicos enfrentados a una herida (todos en algún momento en sus vidas), a enfrentarla y manejarla adecuadamente con el mejor resultado posible. En los últimos años ha habido enormes avances en el entendimiento del proceso de cicatrización, los tipos celulares que contribuyen al orden en el cual aparecen en la herida. No obstante, más pasos deben ser descubiertos para que podamos prevenir las cicatrices hipertróficas, los queloides y por qué no, la cicatriz misma que deja toda herida.

La cicatrización es el proceso normal que se presenta en los seres humanos para regenerar el tejido epidérmico y dérmico. Cuando un individuo presenta una herida (ruptura de un tejido intencional o accidental), una serie de eventos bioquímicos complejos se presenta para reparar el tejido dañado. Estos eventos se sobrepone entre sí temporalmente, pero para comprenderlos mejor, los explicaremos en pasos separados así: etapa inflamatoria, etapa proliferativa, y fases de remodelación²⁷.

En la tabla 3 muestra los resultados obtenidos en la identificación fitoquímico realizado al extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de *Punica granatum* L. "granada"; observándose la presencia de metabolitos secundarios tales como flavonoides, fenoles y taninos, saponinas (por la presencia de espuma por espacio de dos minutos), antocianinas y cumarinas. Siendo el metabolito secundario que más destacan los taninos al confirmarse durante el ensayo con Cloruro férrico (FeCl_3) donde el extracto hidroalcohólico de *Punica granatum* L. "granada" vira de manera inmediata a una coloración azul-negrizca muy intenso con presencia de precipitado, confirmando así la presencia de taninos de tipo pirogalotánicos o hidrolizables; siendo este metabolito el responsable del efecto farmacológico; nos refiere Kuklisnki¹⁸ que los taninos aplicados en pomadas de uso externo impermeabilizan la piel y la protegen de agentes externos. Si hay una cicatriz favorecen la regeneración(reepitelizantes) y tienen poder analgésico. Melgarejo¹⁷ nos describe; la corteza de la granada contiene taninos hidrolizables llamados elagitaninos, que al ser hidrolizados en el cuerpo producen ácido elálgico. Es una sustancia que promueve la apoptosis (muerte celular natural) de las células cancerosas sin dañar a las células normales. Se trata de un potente

antioxidante y anticarcinógeno que protege a las células frente a los daños provocados por los radicales libres e inhibe las mutaciones del ADN. Otras funciones son: mejora la actividad capilar y fortalece sus membranas, suaviza y mejora la elasticidad de la piel, reduce la retinopatía diabética y mejora la visión, reduce las venas varicosas, ayuda a mejorar la función cerebral y combate la inflamación en la artritis.

En la tabla 4 se muestra los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”. Ayacucho- 2018. Se observa que el extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” presenta un color granate intenso, olor *sui generis*, sabor astringente, y aspecto fluido; soluble en agua, muy soluble en etanol y poco soluble en cloroformo; con un pH de 3,37; con un porcentaje de alcohol de 0 % medidos con el uso de un alcoholímetro; se obtuvo una densidad relativa de 1,20 g/mL que se midió utilizando un picnómetro; presentó un índice de refracción de 1,34 que se midió en un refractómetro equipo que también nos da 5,10 % de sólidos totales para el extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” y su porcentaje de cenizas totales fue de 3,86 %. Vásquez¹⁰ en su trabajo titulado “Condiciones óptimas de extracción de antocianinas de la cáscara de la granada (*Punica granatum L.*) variedad Wonderful” menciona que la cáscara de granada presenta un porcentaje de humedad de $5,5 \pm 1,5$ y un porcentaje de cenizas de $3,6 \pm 0,08$.

Gutiérrez y Terrones⁸ en su investigación titulada: Caracterización fisicoquímica y estabilidad oxidativa del aceite de semilla de “granada” (*Punica granatum*).2016. Menciona en las propiedades fisicoquímicas de la cáscara de granada *Punica granatum* presenta un porcentaje de humedad de $5,5 \pm 1,25$ y porcentaje de cenizas de $3,59 \pm 0,08$.

Pérez¹⁶ en su trabajo de investigación titulado Actividad cicatrizante del cremigel elaborado a base del extracto atomizado de las hojas de *Solanum nitidum R.&P.* “ñuñunga”, Ayacucho 2014 obtiene un porcentaje de humedad de 7,45% que se encuentra de los límites establecidos por la USP y se puede concluir que las condiciones de las drogas son las adecuadas evitando así, la contaminación microbiana y la degradación de sus metabolitos y también su porcentaje de humedad favorece la untuosidad del producto final; además que la ceniza total fue de 2,24 %; siendo el porcentaje de cenizas totales de las especies vegetales un indicativo del contenido total de minerales en la muestra, es un valor que puede considerarse como una medida de la calidad y a menudo es un criterio útil

para determinar la identidad de la planta, cuando hay un alto contenido se sugiere la presencia de adulterantes inorgánicos. Las cenizas totales miden el total de residuos sólidos filtrables, solubles en ácidos e insolubles en ácido clorhídrico, en los que los límites máximos para las cenizas totales son de 12 %; podemos concluir que no contiene compuestos inorgánicos con metales pesados. El pH de 3,37 es muy interesante ya que la acidez de este permite fijarse en proteínas.

Figura 1; se observa el área de la herida en función del tiempo por el efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” donde se aprecia que el área de lesión inicial es de 1 cm² a partir de ellos se observa la reducción del área entre el tercer a cuarto día; nótese que existe una regeneración casi total para los tratamientos en el día 16 de los tratamientos al 1 % y 2 %. Es importante recalcar que ninguna de las heridas presento es esos días pus o eritema; se notó también que a la hora de aplicar la crema de estándar en su grupo correspondiente las unidades experimentales mostraron contorsiones e incomodidad, movimientos involuntarios en esa zona de la herida, siendo el caso que algunos llegaron a extraer la costra retardando e incluso en algunos casos reiniciando el proceso de cicatrización; mientras que en el caso de los tratamientos y el blanco no muestran incomodidad en lo más mínimo ni fastidio al aplicarse su dosis correspondiente.

Sánchez¹⁵ comparó los porcentajes de cicatrización del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Onotheca rosea* “yawar soqo”; encontrando que en los extractos al 2 % y 4 % presentar mejor porcentaje de actividad cicatrizante respecto al estándar Traumaplant; empero los tratamientos no logran un cierre total del área de la herida.

Aguilar¹³ realizó una comparación los porcentajes de cicatrización del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Desmonium molliculum* (HBK) DC.” manayupa”. Ayacucho 2017. Encontrando que el extracto al 4 % es el que más área reduce más aun así no logra superar al estándar Traumaplant®.

En la Figura 2; muestra a que los 8 días de iniciado el proceso de cicatrización la crema al 1 % con 78,22 mm² presenta mayor disminución del área, seguido por el tratamiento al 2 % con 86,39 mm².

En la Figura 3; en el día 10 se puede evaluar que es el tratamiento al 1 % es quien empieza a diferenciarse de los otros tratamientos con 44,26 mm² de área reducida.

En la Figura 4; se puede apreciar como a los 12 días las áreas de la herida van reduciendo de manera continua; siendo el tratamiento al 1 % con 22,94 mm² que presenta una reducción significativa y diferenciada estadísticamente con respecto a los otros tratamientos.

En la Figura 5; nos muestra que a los 14 días la crema al 1 % y 2 % reducen el área de la herida 10,69 mm² y 11,68 mm² siendo estadísticamente similares, mientras que el estándar Traumaplant reduce a la par con el tratamiento al 4 % siendo ambos estadísticamente similares 20,54 mm² y 20,97 mm² siendo el blanco quien menor área a reducido 24,15 mm².

En la Figura 6; muestra que a los 16 días iniciado el proceso de cicatrización; el tratamiento al 1 % y 2 % con 0,09 mm² y 0,31 mm² respectivamente presentan mayor disminución de la herida siendo estadísticamente similares, demostrando un cierre casi total de la herida; mientras que el tratamiento al 4 % y el estándar Traumaplant presentaron una reducción del área afectada estadísticamente similares de 5,11 mm² en cada uno de ellos ; los cuatro tratamientos mencionados difieren significativamente del blanco que queda rezagado con un 16,76 mm².

De las Figuras 2,3,4,5 y 6 se logra observar la disminución del área de la herida en función del tiempo según los diferentes tratamientos aplicados. Siendo el tratamiento con la crema del extracto fluido de la cáscara de *Punica granatum L.* "granada" al 1 % quien presenta mayor reducción durante estos días en comparación siendo estadísticamente similar con el tratamiento al 2 % los días 14 y 16; mientras que el tratamiento al 4 % y el estándar Traumaplant son estadísticamente similares los días 14 y 16; estos 4 tratamientos difieren significativamente del Blanco. Esto se apoya en los resultados obtenidos mediante la comparación múltiple de la Prueba de Duncan en el día 16 con una diferencia significativa de ($p \leq 6,57 \times 10^{-18}$) a un nivel de confianza de 95 %; lo que conduce a un rechazo de la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alterna confirmando que los datos obtenidos son significativos con una desviación estándar aceptable para los resultados. (Anexo 14).

La Figura 7 permite comparar las muestras tomadas a cada tratamiento y observadas al microscopio donde se observa las distintas capas de la piel epidermis y dermis; donde; el blanco presenta una epidermis incompleta y en formación no definida con alta presencia de material inflamatorio en la dermis más profunda aparece el colágeno en cantidad mínima. El estándar Traumaplant

empieza a formar una epidermis en proceso de formación (incompleta) con presencia de detrito e la parte externa, con una dermis profunda con material inflamatorio y colágeno en formación. El tratamiento al 1 % muestra epidermis en formación, presencia de material inflamatorio y en su dermis profunda un colágeno más definido con respecto a los otros dos grupos anteriores. El tratamiento al 2 % presenta un epidermis bien definida, marcada y desarrollada hasta el día 16; en su dermis profunda escaso material inflamatorio y colágeno en formación y ya desarrollado. El tratamiento al 4 % se observa una epidermis en formación una dermis profunda con menor presencia de material inflamatorio y colágeno definido. Cabe recalcar que las muestras se tomaron al día 17 pasados los 16 días del proceso de cicatrización; se tomaron las biopsias el mismo día y teniendo en cuenta el mismo procedimiento para los 5 grupos. Se realizó esta comparación histopatológica con la finalidad de poder comparar de manera interna que ocurría en cada tratamiento y como actuaba el extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* "granada" en cada tratamiento sobre la piel.

Nygaard²⁸ en el 2015 menciona en su artículo Antibióticos en cultivo celular: ¿amigo o enemigo? Supresión del crecimiento y diferenciación de queratinocitos en cultivos de monocapa y modelo de piel 3D; que, los queratinocitos epidérmicos humanos normales (células NHEK) son ampliamente utilizados en el campo de la investigación básica, crecidos en forma de monocapa o cultivo celular tridimensional. Los antibióticos betalactámicos, así como los aminoglucósidos, reducen la tasa de proliferación de NHEK y dificultan el desarrollo de una epidermis completamente diferenciada en modelos de piel 3D. Desde 1970 hasta los años 90, numerosos artículos científicos han probado los efectos antiproliferativos de los antibióticos betalactámicos como la penicilina en células eucariotas cultivadas. Un experimento realizado por Promocell, demostró que el uso de gentamicina y anfotericina, después de cuatro a cinco días de cultivo, se pudo detectar una clara diferencia en la tasa de crecimiento. Mientras que NHEK sin antibióticos había llenado el plato de cultivo. De tal forma que los queratinocitos tratados con antibióticos crecen más lentamente y dejan de proliferar antes²⁹.

Cárdenas¹² en su investigación titulada Efecto de la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Punica granatum L.* "granada" sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus In vitro*; en el año 2013; en sus conclusiones

menciona que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Punica granatum L.* “granada” presento su mayor efecto inhibidor a la concentración de 200 mg/ mL tanto sobre *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *In vitro*. Demostrando así que las hojas de esta planta si presenta efecto antibacteriano.

Romero⁷ en su trabajo de investigación titulado: Efecto inhibitorio *In vitro* de extractos etanólicos de la cáscara de *Punica granatum* “granada” y *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae*. Lambayeque-Perú 2017. Concluye que Los extractos etanólicos de clavo de Olor y de Granada presentan actividad inhibitoria *In vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* y *Pseudomonas aeruginosa*. La especie más susceptible a los extractos etanólicos de Clavo de Olor y Granada fue *Staphylococcus aureus* y la que presentó menos susceptibilidad fue *Pseudomonas aeruginosa*; siendo la Concentración máxima inhibitoria (CMI) para el extracto etanólico de Clavo de Olor y Granada, fue para *Staphylococcus aureus* 50mg/mL.; para *Vibrio cholerae* y *Pseudomonas aeruginosa* 100 mg/mL. Se concluye que ninguna de las cepas utilizadas presentó efecto bactericida con las concentraciones empleadas. Confirmando así que a mayor concentración la cáscara de granada presenta mayor efecto antibacteriano.

De la comparación histopatológica y los resultados obtenidos de la medición de áreas se concluye que a menor concentración el extracto fluido presenta mejor efecto cicatrizante, pero hay mayor presencia de material inflamatorio en la dermis profunda; mientras que a mayor concentración presenta menor efecto cicatrizante, pero se observa menor presencia de material inflamatorio. Siendo el tratamiento al 2 % quien presenta de manera externa, así como también interna un cierre homogéneo de la herida y mejor calidad con respecto a los otros tratamientos.

En Anexo 4; se observa las concentraciones a trabajar para cada tratamiento teniendo como medio o vehículo del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” al 1 %, 2 % y 4 % homogenizadas en crema base. Previamente se realizó un piloto para elegir la forma farmacéutica ideal para el activo (gel o crema), de donde se logra observar que existe un mejor comportamiento del activo en la forma farmacéutica de crema; teniendo en cuenta también que el medicamento comercial o estándar Traumaplant del

mismo modo es una crema. Las cremas elaboradas presentarán buena característica visual y un pH cercano al biológico y compatibilidad con sus excipientes. Siendo pH de las cremas: para 1 % 4,54 para el 2 % 4,10 y para el 4 % de 3,9. De donde se observa que la crema a concentración de 1 % presenta un pH ideal para la piel y que a mayor concentración la crema tiende a tornarse más ácida.

El pH de la piel y los productos cosméticos en la 4ta jornada de Dermofarmacia del Departamento de Farmacia y Tecnología farmacéutica, Facultad de farmacia, Universidad de Sevilla refiere como pH de la Piel comprendida entre 4,0 - 5,5 un pH constante entre las edades comprendidas entre los 18 a 60 años de edad. Siendo este un pH aproximado y referencial para piel ya que esta está sujeta a diferentes cambios de diferente índole³⁰.

Vila²¹ en su libro Formas farmacéuticas nos menciona: Forman parte de la fase grasa de muchas cremas de tipo emulsión que se aplican sobre la piel en capa fina; cuando se evapora el agua, quedan recubriendo la piel en forma de película finísima, casi invisible, emoliente y protectora y, al mismo tiempo, de oclusividad moderada debido al ínfimo espesor de la capa.

Se logró determinar que el extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* "granada" presenta efecto cicatrizante; así mismo constituye una forma farmacéutica adecuada para procesos cicatrizantes por su cómoda y fácil aplicación en la curación de heridas.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto fluido obtenido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” si presenta efecto cicatrizante en la piel de ratas albinas.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” son: taninos, saponinas y flavonoides en menos concentración.
3. El extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” presenta aspecto fluido; color granate intenso, sabor astringente; olor *sui generis*. Es soluble en agua y alcohol; con un pH ácido (3,37), porcentaje de alcohol de 0 %, una densidad de 1,20 g/mL, índice de refracción de 1,34, sólidos totales 5,10 %y cenizas totales de 3,86 %.
4. El extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” a menor concentración presenta mejor efecto cicatrización siendo el tratamiento al 2 % el que mostró la mejor calidad de cierre de la herida.
5. La comparación histopatológica en la piel de las ratas de los grupos de estudio (blanco; estándar, tratamiento al 1 %, 2 % y 4 %) muestran que a menor concentración hay mejor efecto cicatrizante del extracto fluido obtenido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada”.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios comparativos del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” con dos o más estándares.
2. Realizar estudios comparativos de *Punica granatum L.* “granada” (Hojas, tallo, fruto, cáscara del fruto, flores, etc.) para demostrar que parte de la planta presenta mejor efecto cicatrizante
3. Realizar la evaluación de los parámetros fisicoquímicos correspondientes según la forma farmacéutica a utilizar del extracto hidroalcohólico de *Punica granatum L.* “granada”; para su empleo como cicatrizante.
4. Realizar el aislamiento del metabolito responsable del efecto cicatrizante; para los estudios que correspondan.

VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. Montón J. Validación de un nuevo método de análisis digital de superficies. Cirugía Plástica Ibero - Latinoamericana - Vol. 32 - Nº 2. Albacete – España. [Revista en internet] 2006 [Acceso el 06 de Julio del 2018]. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/cpil/v32n2/01.pdf>
2. Sepúlveda S. y Andrades P. Apuntes de Cirugía plástica. Cicatrización Normal. Hospital Clínico Universidad de Chile [Revista en Internet] [Acceso el 05 de Julio del 2017]. Disponible en: <http://www.patricioandrades.cl/wp-content/uploads/2011/05/3-Cicatrizacion-Normal.pdf>
3. Carbonell. A. Punicalagina Antioxidante natural de la granada propiedades y beneficios para la salud. Instituto de Biología Molecular y Celular. Universidad Miguel Hernández de Elche, Alicante – España. 2014. Disponible en: <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/1548/7/TD%20Salud%20Vegara%20G%C3%B3mez.pdf>
4. Melgarejo P. El granado I Jornadas nacionales sobre el granado: Producción, economía, industrialización, alimentación y salud. Conferencia general: el granado, su problemática y usos. Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Escuela Politécnica Superior de Orihuela Universidad Miguel Hernández de Elche. Valencia –España. [Revista en internet] 2010 [Acceso el 27 de abril del 2019]. Disponible en: <http://dpvm.umh.es/docs/publicaciones/i%20jornadas%20nacionales%20sobre%20el%20granado.pdf>
5. Gutiérrez C. Modelo para la valoración cuantitativa de la cicatrización. Estudio piloto con miel de abeja. Asociación Mexicana de Cirugía general. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Querétaro – México. Volumen 27 Nº 2. Abril – Junio del 2005. [Revista en internet] 2005 [Acceso el 06 de Julio del 2017]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cirgen/cg-2005/cg052b.pdf>
6. García-Viguera C., Pérez Vicente A. La granada. Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías. Laboratorio fotoquímico. Departamento de ciencia y tecnología de alimentos. Cebas-CSIC. Murcia – España. [Revista en Internet] 2004. [Acceso el 05 de Julio del 2017]. Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/17946/3/lecturaPDF.pdf>
7. Romero J. y Villegas E. Efecto inhibitorio In vitro de extractos etanólicos de la cáscara de *Punica granatum* “granada” y *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae*. [Tesis]. Lambayeque-Perú 2017.
8. Gutiérrez E. y Terrones L. Caracterización fisicoquímica y estabilidad oxidativa del aceite de semilla de “granada” (*Punica granatum*). Universidad del Santa. Facultad de ingeniería. Tesis para optar el título de ingeniero agroindustrial. Áncash-Perú 2016. Disponible en: <http://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/UNS/2985/46311.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Palma K. y Torres C. “Cuantificación espectrofotométrica de los taninos totales en el epicarpio de *Punica granatum L.*, procedente del distrito de Chimbote – Ancash”. [Tesis]. Universidad Nacional de Trujillo – Perú. 2016. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1477/Palma%20Lucio%20Kiara%20Estefani%20II.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
10. Vásquez F. Informe final del proyecto de investigación: “Condiciones óptimas de extracción de antocianinas de la cáscara de la granada (*Punica granatum L.*) variedad Wonderful” Universidad le Corden Bleu. Escuelas de

- ingeniería e industrias alimentarias. Lima-Perú. 2016. [Acceso el 26 de abril del 2019] Disponible: <https://docplayer.es/120183513-Universidad-le-cordon-bleu.html>
11. Arbayza Fructuoso J. Capacidad antioxidante del zumo y de los extractos hidroalcohólico y acuoso obtenidos de *Punica granatum* y su relación con el contenido de polifenoles. Departamento de Farmacotecnia. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo – Perú Revista Farmaciencia Vol. 2 N° 2 [Revista en internet] 2014 [Acceso el 25 de abril del 2019]. Disponible: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/758/682>
 12. Cárdenas C. Efecto de la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Punica granatum* L. “granada” sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* In vitro. Tesis para optar el título de Biólogo – Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo - Perú 2013. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3168/Cardenas%20Aguilar%20Cesar%20Eduardo.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 13. Aguilar A. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (HBK) DC.” manayupa”. Ayacucho 2017. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú 2017.
 14. Canahualpa M. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. “Kimsa cucho”. Ayacucho 2016. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutica. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú 2016.
 15. Sánchez J. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Onothera rosea* “Yawar soqo”. Ayacucho 2016. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú 2017.
 16. Pérez F. Actividad cicatrizante del cremigel elaborado a base del extracto atomizado de las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga”, Ayacucho - 2014. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional San Cristóbal De Huamanga. Ayacucho - Perú 2014.
 17. Cuadros J. Efecto cicatrizante del extracto atomizado de las hojas *Solanum nitidum* R. & P. “ñuñunga” en ratas winstar, Ayacucho 2012. Universidad Nacional San Cristóbal De Huamanga. Ayacucho - Perú 2012.
 18. López Mejía O. Granada (*Punica granatum* L): Una fuente de antioxidantes de interés actual. Departamento de ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla. Santa Catarina Mártir, Cholula, Puebla, México. [Revista en internet]. 2010 [Acceso el 25 De abril del 2019]. Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-1/TSA-4\(1\)-Lopez-Mejia-et-al-2010.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-1/TSA-4(1)-Lopez-Mejia-et-al-2010.pdf)
 19. Kuklinski Cl. Farmacognosia Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Editorial Omega.2003. Barcelona-España. Pág. 110-116.
 20. Wilkinson J, Moore R. J. Cosmetología de Harry. Edición Díaz de santos S.A. 1990. Madrid-España. [Acceso el 03 de enero del 2019]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=fnQ9mGMH15oC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_atb#v=onepage&q&f=false
 21. Vila Jato J.L. Tecnología Farmacéutica. Volumen II: Formas Farmacéuticas. Editorial Síntesis. España 2001. [Acceso el 23 de febrero del 2019]. Disponible en: https://www.ucursos.cl/usuario/c25b93f7ec03b9603ab499e3f1f7c8eb/mi_blog/r/Tecnologia.Farmaceutica2_medilibros.com.pdf

22. Farmacopea Argentina Vol. VII. Edición 7ma. [Acceso el 15 de junio del 2019].
Disponible:http://anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_IV/files/assets/basic-html/page234.html
23. Lukoll [Internet]. Equipo Lukoll [Acceso el 06 de agosto 2019]. Disponible en: <https://www.lukoll.com/productos/traumaplant-crema/>
24. Lock de Ugaz O. Investigacion fitoquimica. Perú: Edit. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994.
25. Estrategias de OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Conferencia Internacional sobre Medicina Tradicional en los países de Asia Sudoriental. Nueva Delhi (India), 12 a 14 de febrero de 2013. [Acceso el 23 de abril del 2019]Disponible:<http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
26. Vitalgrana productores- Los efectos beneficiosos de la granada. Recopilación de estudios científicos sobre la granada a cargo de la Universidad Miguel Hernandez de Elche supervisado a través de Skin Research Platform Proyecto patrocinado por Vitalgrana Pomegranate, S.L. España [Acceso el 25 de abril del 2019] Disponible en: <https://www.vitalgrana.com/estudios/estudio-beneficios-granada-vitalgrana.pdf>
27. Buitrago G. Biología de las heridas y el proceso de cicatrización. Universidad Tecnológica de Pereira – Colombia. Febrero 2019 [Acceso el 26 de abril del 2017].Disponible:https://www.researchgate.net/publication/331181603_BIOLOGIA_DE_LAS_HERIDAS_Y_EL_PROCESO_DE_CICATRIZACION
28. Nygaard H. Antibióticos en cultivo celular: ¿amigo o enemigo? Supresión del crecimiento y diferenciación de queratinocitos en cultivos de monocapa y modelo de piel 3D.2015. Universidad Aarhus Dinamarca; Departamento 3D de Dermatología, Instituto Radboud de Ciencias de la Vida Molecular, centro médico universitario. [Acceso el 28 de abril del 2019]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/exd.12834>
29. Labclinics - Barcelona, comercialización y distribución de equipamiento y material de laboratorio para la investigación y el diagnóstico clínico en España y Portugal. [Acceso el 28 de abril del 2019]. Disponible en: <http://www.labclinics.com/antibioticos-cultivo-celular/#seccion3>
30. Jesús M.L. El pH de la piel y los productos cosméticos. Cuarta jornada de Dermofarmacia. 2017. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla-España. [Acceso el 28 de abril del 2019]. Disponible en: <https://www.portalfarma.com/jornadas-congresos/4a-Jornada-Nacional-Dermofarmacia/Documents/2017-JNAConferenciaMJesus-Lucero-pH-piel-productos-cosmeticos.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de descripción taxonómica de *Punica granatum* L.
"granada" Ayacucho 2017



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
"SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"

C E R T I F I C A

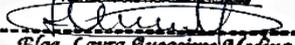
Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Srta. Susan Marita, NAJARRO ROJAS**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	MYRTALES
FAMILIA	:	PUNICACEAE
GENERO	:	Punica
ESPECIE	:	<i>Punica granatum</i> L.
N.V.	:	"granada"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 9 de Setiembre del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

B^lga. Laura Aucasime Medina
JEFE

Traumaplant® 10%

Symphytum peregrinum (Extracto concentrado de Consuelda)

Crema Tópica analgésica y antiinflamatoria

■ COMPOSICIÓN:

- Cada 100 g de crema contiene:
Extracto concentrado de Consuelda
- (Obtenido de 25 g de hierba fresca de *Symphytum peregrinum*)..... 10,0 g
- Excipientes c.s.p. 100,0 g

El complejo de sustancias activas de la crema Traumaplant® se obtiene de la consuelda recientemente cosechada. Se trata de una planta muy difundida y originaria de la Rusia Meridional, que tradicionalmente se ha empleado en medicina.

Los ingredientes farmacológicamente activos de dicho complejo estandarizado y muy concentrado se aíslan con la debida precaución del extracto de Consuelda recién obtenido: La colina, el ácido de romero y la alantoína producen un efecto antiinflamatorio, antiexudativo y cicatrizante.

A través de las terminaciones nerviosas del sistema parasimpático, la colina ejerce una dilatación vascular que acrecienta la afluencia de sangre a los tejidos inflamados.

De este modo, se eliminan los exudados inflamatorios y los productos metabólicos de la zona afectada. Como sustancia vasoactiva que reduce la permeabilidad de los capilares, la colina es responsable en primer lugar de la acción antiexudativa de Traumaplant®. El ácido de romero posee propiedades antiexudativas y una marcada actividad antiinflamatoria.

La alantoína estimula la proliferación celular y favorece la regeneración del tejido lesionado. A este componente se debe la acción cicatrizante de Traumaplant® así como la formación más rápida de tejido de granulación.

USO TRADICIONAL RECOMENDADO:

Para golpes y heridas superficiales.

Coadyuvante en el alivio del dolor, la inflamación y edema en distorsiones del tobillo. Aplicable también en heridas abiertas superficiales ya que mejora la cicatrización.

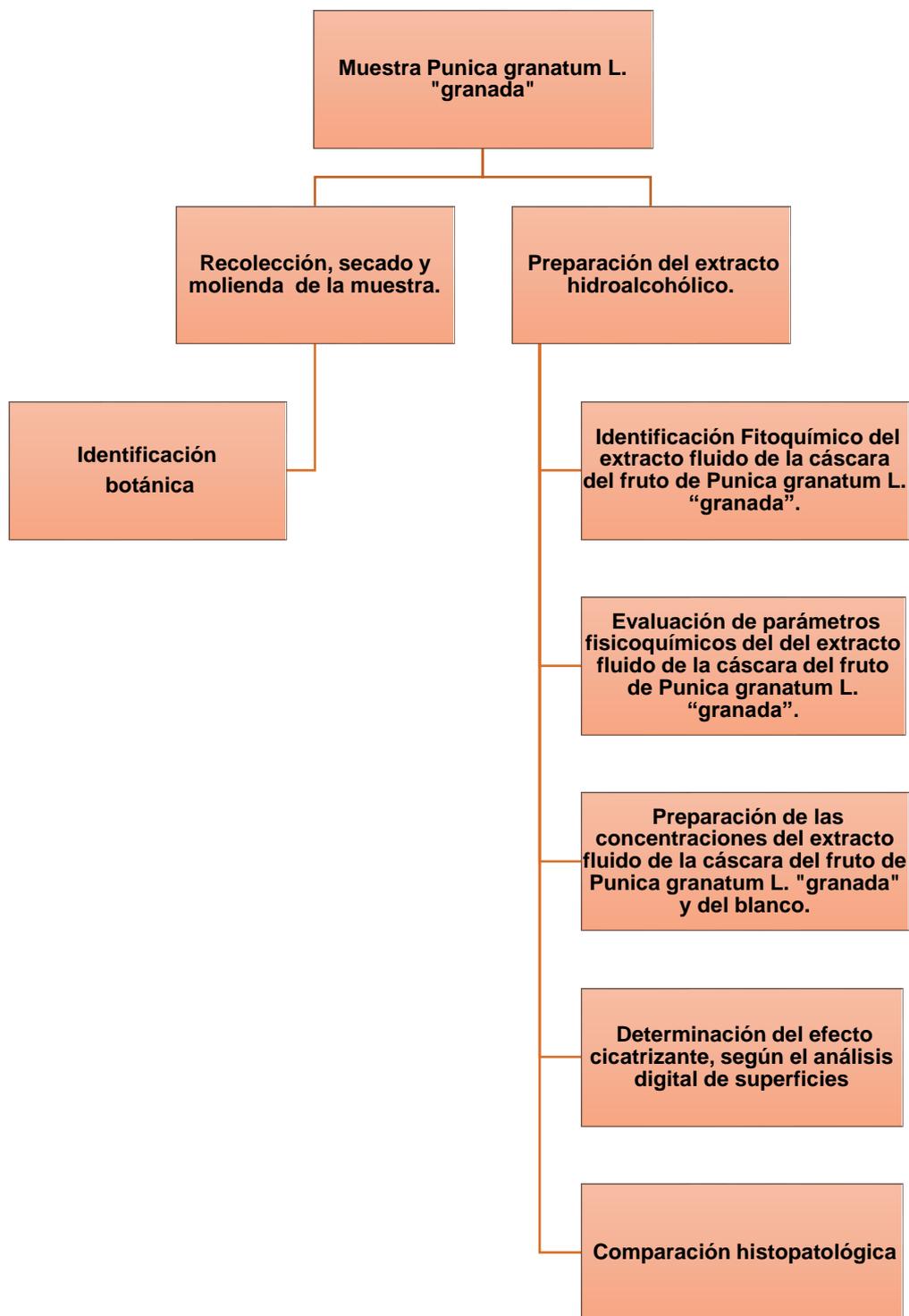
VÍA DE ADMINISTRACIÓN Y DOSIFICACIÓN:

Administración tópica.

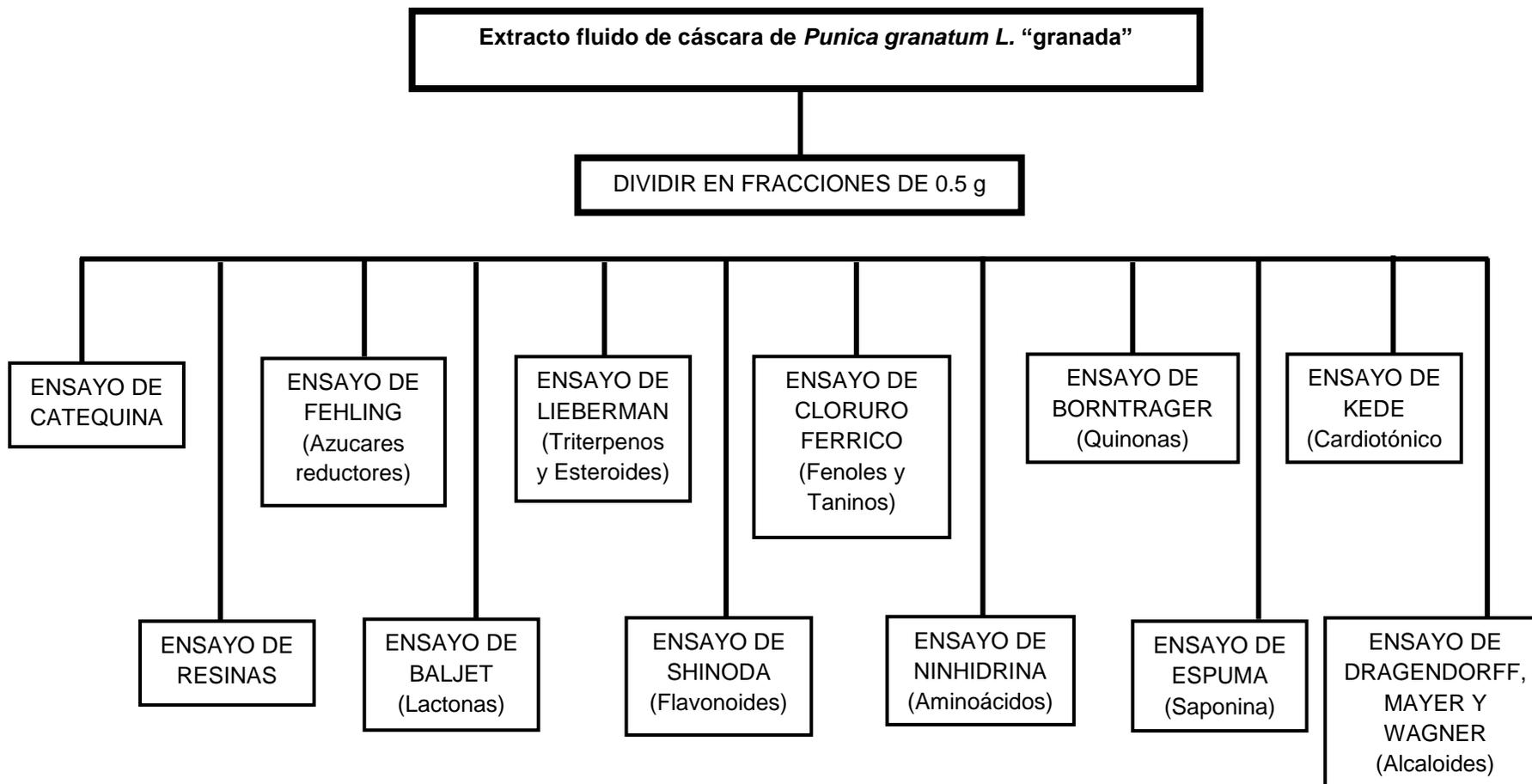
Aplique la crema una o varias veces al día en el área afectada.

La base empleada en Traumaplant® crema, es de alta perfección desde un punto de vista técnico-galénico, facilitando la rápida absorción percutánea de las sustancias activas.

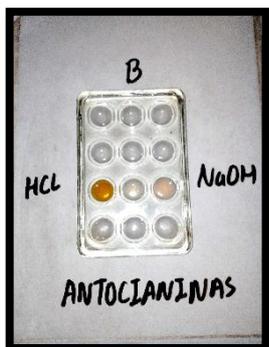
Anexo 3. Flujograma de procedimientos del extracto fluido de la cáscara del futo de *Punica granatum* L. "granada".



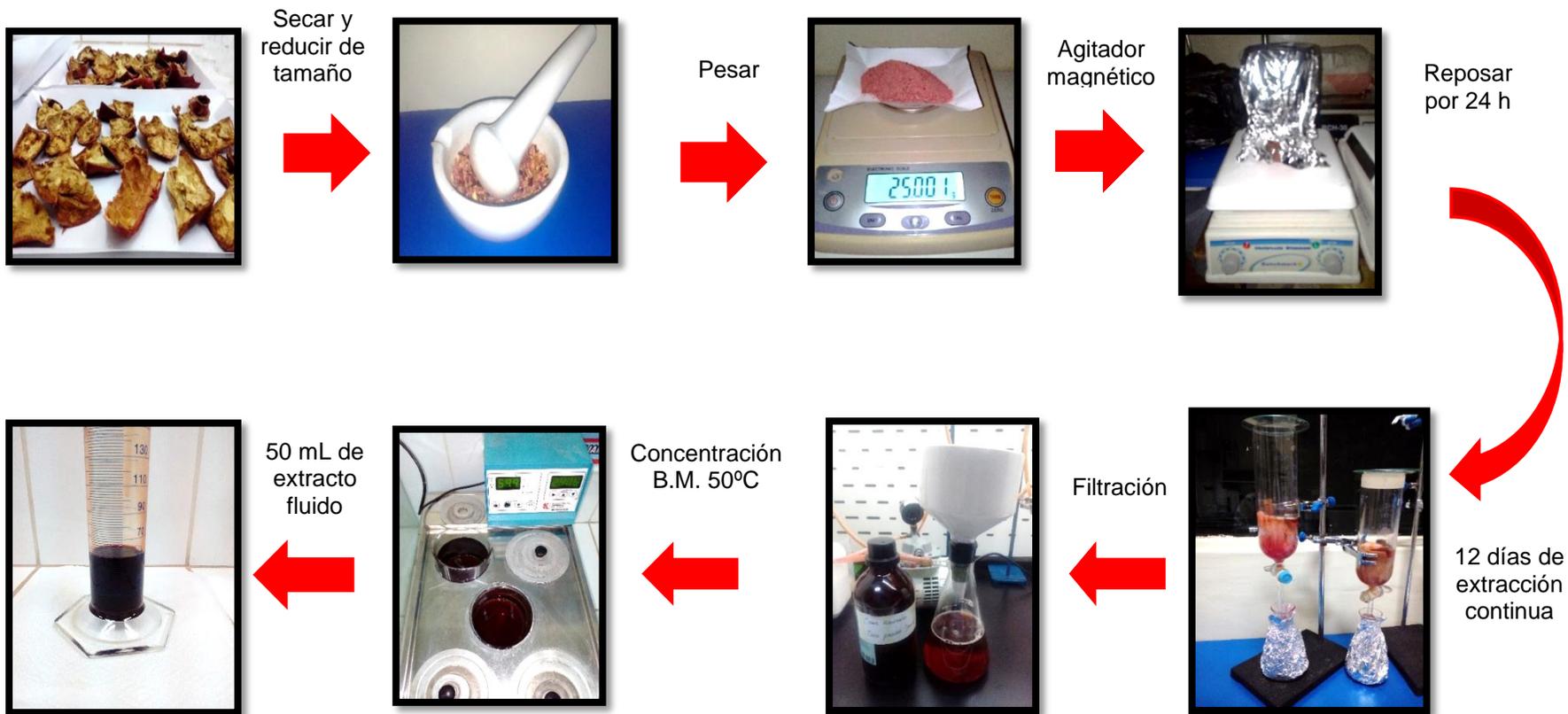
Anexo 4. Identificación fitoquímica del extracto fluido de la cáscara del fruto de *Punica granatum* L. “granada”



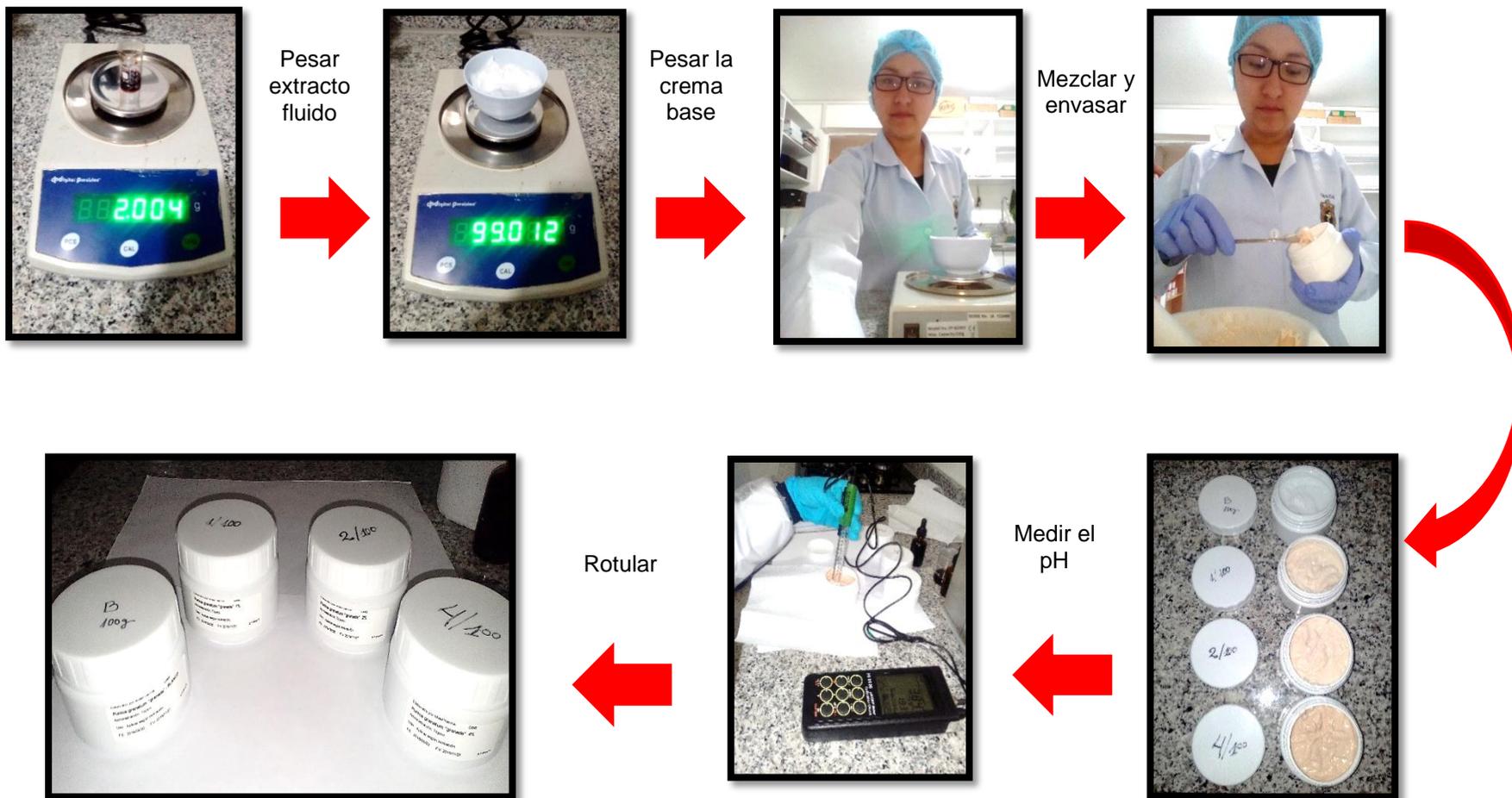
Anexo 5. Resultado de la identificación fitoquímica de extracto fluido de la cáscara de fruto de *Punica granatum* L. "granada" Ayacucho 2018.



Anexo 6. Preparación y obtención del extracto fluido de la cáscara de fruto de *Punica granatum L.* "granada". Ayacucho 2018



Anexo 7. Preparación de la Forma Farmacéutica (Crema) a partir del extracto fluido de la cáscara de fruto de *Punica granatum L.* "granada". Ayacucho 2018.



Anexo 8. Procedimiento quirúrgico. Ayacucho 2018



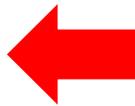
Medir con una plantilla un área de 1 cm²



Procedimiento quirúrgico

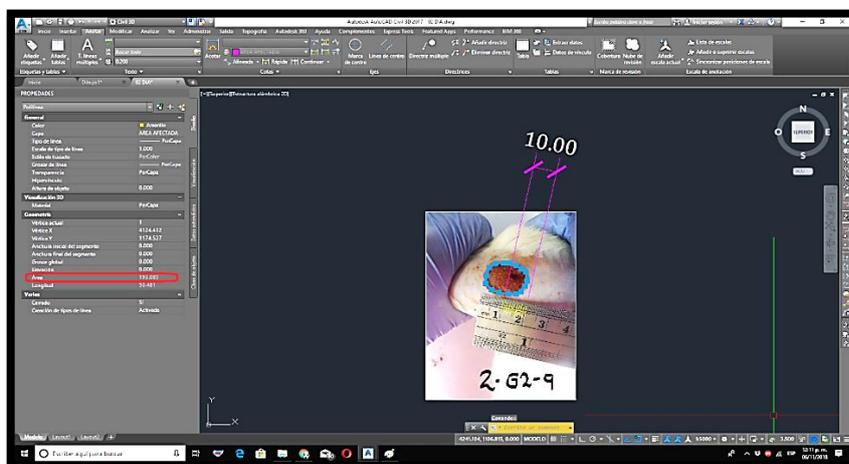
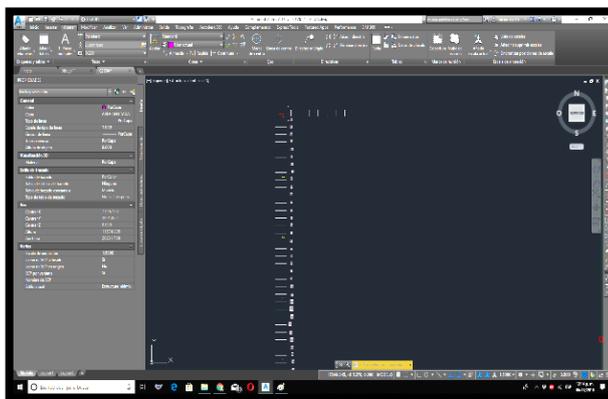
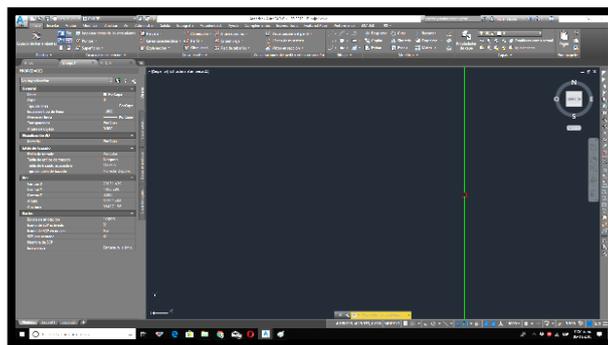


Aplicar el tratamiento según corresponda

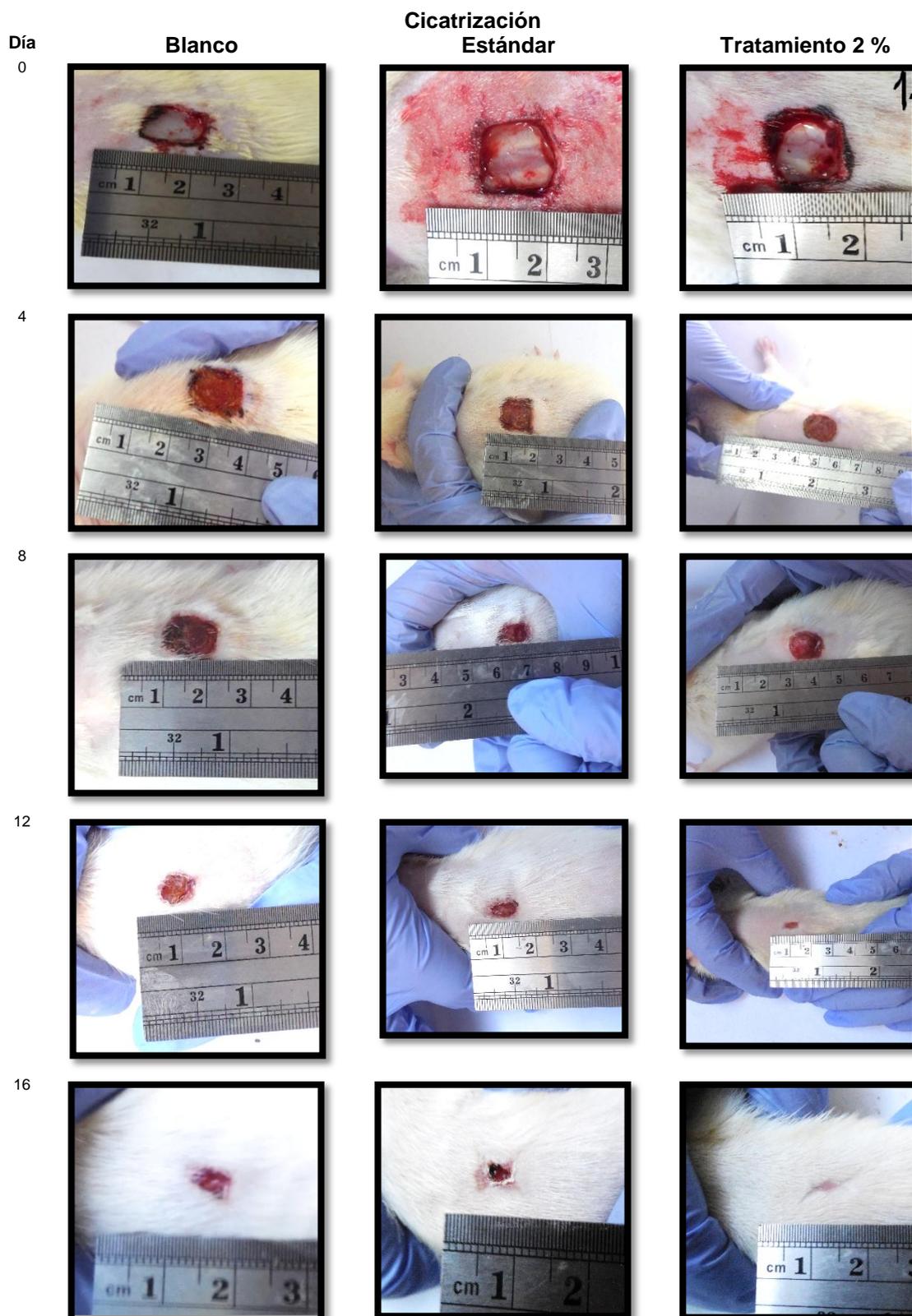


Medir el área de la herida según técnica

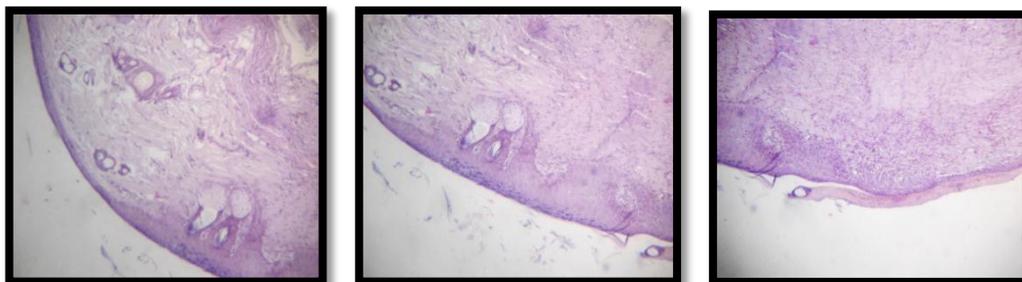
Anexo 9. Procedimiento para hallar el área de la herida (mm²); utilizando el programa AutoCAD Civil 3D 2017. Ayacucho 2018.



Anexo 10. Comparación de la herida; en los 16 días de tratamiento. Ayacucho 2018.



Anexo 11. Obtención de la muestra para la comparación histopatológico de las heridas según tratamientos, blanco y estándar.



Anexo 12. Valores descriptivos de la disminución de la herida. Ayacucho 2018.

Día	Trat.	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Intervalo de confianza para la media al 95 %		Min	Max
						L. Inf.	L. Sup.		
4	Blanco	5	175,57	4,28	1,92	170,25	180,88	170,82	182,09
	Ext. 1 %	5	149,45	2,78	1,24	145,10	152,90	147,03	153,35
	Ext. 2 %	5	151,62	2,45	1,10	148,58	154,67	148,86	155,54
	Ext. 4 %	4	152,48	11,45	5,73	134,26	170,70	144,06	169,2
	Estándar	4	137,89	4,46	2,23	130,79	144,99	133,35	143,16
	Total	23	154,12	13,63	2,84	148,22	160,01	133,35	182,09
6	Blanco	4	144,71	10,73	5,37	127,64	161,79	130,02	155,25
	Ext. 1 %	4	106,80	9,56	4,78	91,59	122,02	98,5	115,09
	Ext. 2 %	5	116,34	4,27	1,91	111,03	121,64	111,28	120,46
	Ext. 4 %	4	126,88	11,80	5,90	108,11	145,66	110,82	138,69
	Estándar	4	111,79	4,75	2,38	104,24	119,35	107,93	118,17
	Total	21	121,07	15,52	3,39	114,00	128,14	98,50	155,25
8	Blanco	4	104,77	7,66	3,83	92,58	116,96	96,97	115,22
	Ext. 1 %	6	78,22	7,45	3,04	70,40	86,04	70,98	89,3
	Ext. 2 %	5	86,39	5,50	2,46	79,56	93,22	81,4	92,6
	Ext. 4 %	5	100,31	5,22	2,33	93,83	106,78	93,92	108,34
	Estándar	4	89,74	5,28	2,64	81,34	98,14	85,7	97,45
	Total	24	90,87	11,52	2,35	86,01	95,73	70,98	115,22
10	Blanco	5	61,25	3,56	1,59	56,83	65,66	56,02	64,85
	Ext. 1 %	4	44,26	3,50	1,75	38,69	49,82	40,90	47,96
	Ext. 2 %	4	57,04	5,49	2,75	48,30	65,79	49,08	61,66
	Ext. 4 %	4	56,72	3,10	1,55	51,79	61,66	53,63	61,00
	Estándar	4	54,28	5,37	2,69	45,73	62,83	49,98	61,55
	Total	21	55,02	7,00	1,53	51,83	58,21	40,90	64,85
12	Blanco	4	47,74	3,88	1,94	41,57	53,91	41,97	50,32
	Ext. 1 %	4	22,94	2,29	1,15	19,29	26,59	20,03	25,56
	Ext. 2 %	4	34,27	2,72	1,36	29,94	38,61	31,79	36,8
	Ext. 4 %	5	36,84	3,52	1,57	32,47	41,21	30,83	39,93
	Estándar	4	38,97	3,71	1,86	33,06	44,88	35,47	44,18
	Total	21	36,18	8,54	1,86	32,30	40,07	20,03	50,32
14	Blanco	4	24,15	1,34	0,67	22,02	26,27	22,16	25,00
	Ext. 1 %	5	10,69	0,97	0,43	9,48	11,90	9,92	12,33
	Ext. 2 %	5	11,68	1,13	0,50	10,28	13,08	9,96	13,00
	Ext. 4 %	5	20,97	1,49	0,67	19,12	22,83	18,61	22,57
	Estándar	4	20,54	1,71	0,86	17,81	23,26	18,12	22,13
	Total	23	17,19	5,66	1,18	14,75	19,64	9,92	25,00
16	Blanco	5	16,76	1,37	0,61	15,07	18,46	15,5	18,99
	Ext. 1 %	5	0,09	0,01	0,01	0,08	0,10	0,09	0,10
	Ext. 2 %	4	0,31	0,01	0,01	0,29	0,33	0,29	0,32
	Ext. 4 %	4	5,11	0,20	0,10	4,80	5,45	5,00	5,41
	Estándar	5	5,11	0,50	0,22	4,50	5,73	4,51	5,56
	Total	23	5,72	6,39	1,33	2,96	8,48	0,09	18,99

Anexo 13. Análisis de varianza. Ayacucho 2018.

Días	Grupos	Suma de Cuadrados	gl.	Media Cuadrática	F	Sig.
2	Inter-grupos	3031,39	4	757,85	7,69	$5,59 \times 10^{-4}$
	Intra-grupos	2070,86	21	98,61		
	Total	102,25	25			
4	Inter-grupos	3505,05	4	876	27,13	$2,08 \times 10^{-7}$
	Intra-grupos	581,30	18	32		
	Total	4086,35	22			
6	Inter-grupos	3641,66	4	910,42	12,37	$9,0 \times 10^{-5}$
	Intra-grupos	1178,00	16	73,63		
	Total	4819,67	20			
8	Inter-grupos	2283,83	4	570,96	14,15	$1,6 \times 10^{-5}$
	Intra-grupos	766,76	19	40,36		
	Total	3050,59	23			
10	Inter-grupos	687,52	4	171,88	9,38	$4,22 \times 10^{-4}$
	Intra-grupos	293,29	16	18,33		
	Total	980,81	20			
12	Inter-grupos	1283,86	4	320,97	29,50	$3,32 \times 10^{-7}$
	Intra-grupos	174,07	16	10,88		
	Total	1457,93	20			
14	Inter-grupos	673,35	4	168,34	94,93	$7,64 \times 10^{-12}$
	Intra-grupos	31,92	18	1,77		
	Total	705,26	22			
16	Inter-grupos	888,82	4	222,20	466,58	$6,57 \times 10^{-18}$
	Intra-grupos	8,57	18	0,48		
	Total	897,39	22			

Si: Sig.< 0,05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente del resto.

Anexo 14. Comparaciones múltiples de la prueba de Duncan. Ayacucho 2018.

DIA	Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
4	Estándar	4	137,89		
	Ext. 1 %	5		149,45	
	Ext. 2 %	5		151,62	
	Ext. 4 %	4		152,48	
	Blanco	5			175,57
	Sig.		1	0,46	1
6	Ext. 1 %	4	106,80		
	Estándar	4	111,79		
	Ext. 2 %	5	116,33	116,33	
	Ext. 4 %	4		126,88	
	Blanco	4			144,71
	Sig.		0,147	0,10	1
8	Ext. 1 %	6	78,22		
	Ext. 2 %	5	86,39	86,39	
	Estándar	4		89,74	
	Ext. 4 %	5			100,31
	Blanco	4			104,77
	Sig.		0,06	0,43	0,30
10	Ext. 1 %	4	44,26		
	Estándar	4		54,28	
	Ext. 4 %	4		56,72	56,72
	Ext. 2 %	4		57,04	57,04
	Blanco	5			61,25
	Sig.		1	0,39	0,17
12	Ext. 1 %	4	22,94		
	Ext. 2 %	4		34,27	
	Ext. 4 %	5		36,84	
	Estándar	4		38,97	
	Blanco	4			47,74
	Sig.		1	0,07	1
14	Ext. 1 %	5	10,69		
	Ext. 2 %	5	11,68		
	Estándar	4		20,54	
	Ext. 4 %	5		20,97	
	Blanco	4			24,15
	Sig.		0,28	0,63	1
16	Ext. 1 %	5	0,09		
	Ext. 2 %	4	0,31		
	Ext. 4 %	4		5,11	
	Estándar	5		5,11	
	Blanco	5			16,76
	Sig.		0,64	0,997	1

Anexo15. Matriz de consistencia

TÍTULO: Efecto cicatrizante del extracto fluido de cáscara del fruto de *Punica granatum L.* “granada” en ratas albinas. Ayacucho 2018.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	DISEÑO METODOLÓGICO
Efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada” en ratas albinas. Ayacucho 2018.	¿Tendrá efecto cicatrizante el extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada” en ratas albinas Ayacucho 2018?	<p>Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none"> • Demostrar el efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada” en ratas albinas <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Identificar los metabolitos secundarios en el extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada”. • Determinar los parámetros fisicoquímicos del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada”. • Evaluar el efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada”, en la piel de en ratas albinas. • Realizar una comparación histopatológica en la piel de las ratas de los grupos de estudio (blanco; estándar, tratamiento al 1 %, 2 % y 4 %). 	<p><i>Punica granatum L.</i> “granada” con un porte arbustivo, de 3 a 6 m de altura, perteneciente a la familia de las Punicaceae. Las hojas son de color verde brillante, lustrosas por el haz y con el borde entero. Las flores (floración entre mayo y julio) son grandes y de color rojo, lustrosas y acampanadas-El fruto es una baya globosa, denominada balausta, de color rojo brillante, verde amarillento o blanquecino.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Clasificación Taxonómica • Descripción botánica • Distribución geográfica • Uso Tradicional • Otros usos • Composición química de la <i>Punica granatum L.</i> “granada” • Metabolitos secundarios que intervienen en la cicatrización • La Piel • Etapas de la cicatrización 	<p>•Hi: El extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada” tiene efecto cicatrizante.</p> <p>•Ho: El extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada” no tiene efecto cicatrizante.</p>	<p>•Variable Independiente: El extracto fluido de <i>Punica granatum L.</i> “granada”.</p> <p>• Indicador: Concentraciones</p> <p>•Variable Dependiente: Efecto cicatrizante del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada”.</p> <p>• Indicador: Medidas del área (mm²) de cicatrización.</p>	<p>Población: Constituida por la cáscara del fruto de la especie <i>Punica granatum L.</i> “granada”.</p> <p>Muestra: La muestra que se utilizó fue constituida por 50 g de la cáscara seca y molida del fruto <i>Punica granatum L.</i> “granada”. El sistema de muestreo fue por conveniencia.</p> <p>Unidad experimental: Se contará con 40 unidades de ratas albinas, edad adulta de peso promedio entre 180 a 250 g, de un solo sexo (hembras).</p> <p>Diseño experimental: Básico- Experimental.</p> <p>Procedimiento Experimental:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Procedimiento de recolección, secado y molienda de la muestra • Preparación del extracto fluido. • Identificación Fitoquímica de los metabolitos secundarios del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada”: • Evaluación de parámetros fisicoquímicos del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada”: • Elaboración de las cremas a partir del extracto fluido de la cáscara del fruto de <i>Punica granatum L.</i> “granada” y el blanco. • Determinación del efecto cicatrizante, según análisis digital de superficie. • Evaluación histopatológica <p>Método Experimental: Se fundamenta en medir el área (mm²) de una herida abierta utilizando el programa de AutoCAD. Modelo propuesto por Montón¹.</p> <p>Análisis Estadístico: Mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05.</p>