



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Efecto cicatrizante del extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L). sobre heridas superficiales en *Mus musculus albinus*, Ica - 2023.

Presentado por:


EURIBE ORTIZ, VALERIA

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **1%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 26 de Junio de 2024


.....
Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Efecto cicatrizante del extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L). sobre heridas superficiales en *Mus musculus albinus*, Ica - 2023.

Línea de investigación
Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

Bach. VALERIA EURIBE ORTIZ

Ica, Perú

2023

Dedicatoria

El presente trabajo de investigación lo dedico principalmente Dios por guiarme y darme las fortalezas para lograr todas mis metas. A mis padres Luis y Carmen y mi hermano Luis por su amor incondicional, por su paciencia, por sus consejos por siempre impulsarme a perseguir mis metas y nunca abandonarlos. A mi novio José por apoyarme y ser gran soporte y motivación para lograr mis metas. A mis abuelos por ser principal fuente de inspiración, por todo el apoyo y amor brindado durante la carrera universitaria. Aunque ya no se encuentren físicamente, siempre estarán presente en mi corazón.

Agradecimientos

Agradezco de manera especial a mi asesora a la Dra. Haydee Chávez Orellana por ser una Profesional de Calidad y por todo el apoyo brindado en el desarrollo de este trabajo, por su valiosa contribución y asesoramiento. A mi Asociación ACIF “Asociación Científica de Investigación Farmacéutica” por su valiosa colaboración, por siempre estar alentando a cada uno de sus miembros a ser mejores personas y profesionales. Gracias a todos los docentes miembros en especial al Dr. Jorge García Ccecarelli, Dr. Felipe Surco Laos y a la Dra. Haydee Chávez Orellana por ser profesionales de calidad e inculcar en sus alumnos la semilla de la investigación. A la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga y a sus excelentes docentes por mi formación profesional.

Gracias de nuevo a todas las personas mencionadas líneas arriba, sin ustedes todo esto no habría sido posible, han sido la luz que guio mi sendero a través de este viaje académico.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I.	INTRODUCCIÓN.....	9
1.1	Marco teórico	16
1.2	Marco conceptual	17
II.	ESTRATEGIA METODOLÓGICA	18
2.1	Tipo y diseño de investigación.....	18
2.1.1	Tipo de la investigación.....	18
2.1.2	Diseño de investigación	18
2.2	Materiales e instrumentos para la investigación.....	19
2.2.1	Reactivos y/o insumos	19
2.2.2	Equipos de laboratorio	19
2.2.3	Materiales de laboratorio	19
2.3	Proceso de la obtención del extracto etanólico.....	20
2.3.1	Recolección:.....	20
2.3.2	Selección:.....	20
2.3.3	Lavado y secado.	21
2.3.4	Corte y maceración del alga	22
2.3.5	Filtración, extracción por reflujo y sequedad del extracto etanólico.	23
2.4	Análisis fitoquímico	26
2.5	Prueba de solubilidad.....	30
2.6	Preparación del extracto a las concentraciones 10%, 30% y 60%.....	31
2.7	Preparación de especímenes:.....	32
2.8	Evaluación de la actividad cicatrizante.....	36
2.9	Aspectos éticos	38
III.	RESULTADOS	39
3.1.	Análisis e interpretación de los resultados	41
IV.	DISCUSIÓN.	45
V.	CONCLUSIONES.....	47
VI.	RECOMENDACIONES.....	48
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
VIII.	ANEXOS.	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Variables de la Investigación	15
Tabla 2 Listado de reactivos y/o insumos utilizados en la investigación	19
Tabla 3 Listado de equipos de laboratorio utilizados en la investigación	19
Tabla 4 Listado de materiales de laboratorio utilizados en la investigación	19
Tabla 5 Prueba de Solubilidad del extracto etanólico del Alga <i>Macrocystis pyrifera</i> (L) (sargazo)	30
Tabla 6 Preparación de las concentraciones del extracto etanólico del Alga <i>Macrocystis pyrifera</i> (L)(sargazo)	31
Tabla 7. Resultados del Tamizaje Fitoquímico del extracto seco del alga <i>Macrocystis pyrifera</i> (L) (sargazo)	39
Tabla 8 Actividad cicatrizante del extracto etanólico de <i>Macrocystis pyrifera</i> (sargazo).....	41
Tabla 9 Porcentaje de Actividad Cicatrizante.....	42
Tabla 10 Gasto en mL de grupo control (-) según método de Tensiómetro de Vaisberg Col	42
Tabla 11 Gasto en mL de grupo control (+) según método de Tensiómetro de Vaisberg Col. ..	42
Tabla 12 Gasto en mL de grupo N° 3: Extracto al 10% según método de Tensiómetro de Vaisberg Col.....	43
Tabla 13 Gasto en mL de grupo N° 4: Extracto al 30% según método de Tensiómetro de Vaisberg Col.....	43
Tabla 14 Gasto en mL de grupo N° 5: Extracto al 60% según método de Tensiómetro de Vaisberg Col.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación playa Las Loberas – San Juan de Marcona	20
Figura 2 Selección de Algas (San Juan de Marcona).....	21
Figura 3 Lavado de Algas	21
Figura 4 Secado de Algas.....	22
Figura 5 Pesado del Alga	22
Figura 6 Macerado del Alga.....	23
Figura 7 Método de Filtración.....	23
Figura 8 Método de Extracción por Reflujo.....	24
Figura 9 Eliminación del solvente con el evaporador rotatorio.....	24
Figura 10 Material Obtenido del Evaporador Rotatorio	25
Figura 11 Extracto seco.....	25
Figura 12 Reacción de gelatina para detección de taninos.....	26
Figura 13 Reacción de cloruro férrico para detección de grupos fenólicos.....	27
Figura 14 Reacción de ninhidrina para detección de aminoácidos.	27
Figura 15 Reacción de Shinoda para detección de flavonoides.....	28
Figura 16 Reacción de Liebermann, Burchard para detección de triterpenos y/o esteroides.	28
Figura 17 Reacción de Bornträger para detección de Antraquinonas.	29
Figura 18 Reacción de Dragendorff, Mayer, Wagner para detección de alcaloides.	29
Figura 19 Reacción de Rosenheim para detección de catequinas.....	30
Figura 20 Extracto etanólico al 10%, 30% y 60%.....	31
Figura 21 Administración de pentobarbital por vía intraperitoneal a ratones	32
Figura 22 Aplicación de crema depilatoria a ratones anestesiados.....	33
Figura 23 Depilación de ratones	33
Figura 24 Ratones anestesiados, observados mediante color de cola y con temperatura controlada para prevención de hipotermia.....	34
Figura 25 Aislamiento en jaulas personales	34
Figura 26 Aplicación de extracto etanólico posterior a incisión.....	35
Figura 27 Postoperatorio	35
Figura 28 Evaluación de la actividad cicatrizante	36
Figura 29 Método tensiómetro de Vaisberg Col. (vista panorámica)	37
Figura 30 Método tensiómetro de Vaisberg Col (vista detallada)	38
Figura 31 ICs simultáneos de 95% de Dunnet.....	42
Figura 32 Promedio de los mL gastados	44

RESUMEN

La flora del mar peruano es una fuente rica para la investigación nacional e internacional. Como parte de estos estudios innovadores nos planteamos como objetivo comprobar la actividad cicatrizante del extracto etanólico del alga *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo). Se recolectó 2 kg de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo). El material seco se maceró durante 7 días en etanol de 96°, se filtró al cabo de este tiempo y el marco se reflujo durante 4 horas. Los filtrados se secaron por destilación al vacío en un evaporador rotatorio R 100 marca Buchi, se realizaron pruebas cualitativas para identificar los metabolitos secundarios. El diseño experimental para comprobar la actividad cicatrizante, se realizó en ratones albinos *Mus musculus* (Cepa: Balb/c/CNPB), divididos en 5 grupos de manera aleatoria. Las heridas fueron incisiones de 1 cm a la altura escapular con sutura; los tratamientos tuvieron administración tópica cada 8 hrs. durante 2 días.

Siguiendo los criterios éticos para una investigación en animales experimentales, se llevó a cabo la eutanasia de los animales (sobredosis anestésica con pentobarbital); minutos después de la muerte se aplicó la prueba de tensión (dinamómetro) a cada ratón; el resultado se obtiene en valores numéricos mayores a 0 a partir del gasto de agua (mL) en bureta.

En el extracto se identificaron los siguientes metabolitos: aminoácidos, triterpenos y/o esteroides, catequinas y flavonoides. El extracto al 10% obtuvo mejores resultados con un porcentaje de eficacia de cicatrización de 155.15% ($p < 0.05$ con respecto al control negativo), respecto a las concentraciones de 30% y 60% que alcanzaron 96.90% y 17.52% respectivamente.

Se puede atribuir la actividad cicatrizante a los aminoácidos (histidina, lisina, fenilalanina y valina), triterpenos, catequinas y flavonoides.

Palabras clave: *Macrocystis pyrifera* (L), efecto cicatrizante, extracto etanólico, triterpenos y esteroides.

ABSTRACT

The Peruvian sea flora is a rich source for national and international research. As part of these innovative studies, our objective was to test the healing activity of the ethanolic extract of the seaweed *Macrocystis pyrifera* (L) (sargassum). Two kg of *Macrocystis pyrifera* (L) (sargassum) were collected. The dried material was macerated for 7 days in 96° ethanol, filtered after this time and the frame was refluxed for 4 hours. The filtrates were dried by vacuum distillation in a Buchi brand R 100 rotary evaporator, qualitative tests were performed to identify secondary metabolites. The experimental design to test the wound-healing activity was performed on *Mus musculus* albino mice (Strain: Balb/c/CNPB), randomly divided into 5 groups. The wounds were 1 cm incisions at scapular height with suture; the treatments had topical administration every 8 hr. during 2 days.

Following the ethical criteria for research in experimental animals, the animals were euthanized (anesthetic overdose with pentobarbital); minutes after death, the stress test (dynamometer) was applied to each mouse; the result is obtained in numerical values greater than 0 from the water expenditure (mL) in burette.

The following metabolites were identified in the extract: amino acids, triterpenes and/or steroids, catechins and flavonoids. The 10% extract obtained better results with a percentage of healing efficacy of 155.15% ($p < 0.05$ with respect to the negative control), with respect to the concentrations of 30% and 60% that reached 96.90% and 17.52% respectively.

The healing activity can be attributed to amino acids (histidine, lysine, phenylalanine and valine), triterpenes, catechins and flavonoids.

Key words: *Macrocystis pyrifera* (L), wound healing effect, ethanolic extract, triterpenes and steroids.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha aumentado el interés por el uso de las plantas medicinales y numerosos estudios han demostrado que su uso tiene una base científica basada en el contenido de principios activos que pueden aislarse, purificarse y luego transformarse para fines terapéuticos específicos. En el mar peruano, existe una gran biodiversidad y recursos hidrobiológicos que ponen a nuestra disposición un sinnúmero de posibles propiedades farmacológicas y médicas a partir de extractos, proporcionándonos un campo extenso para la investigación en farmacognosia marina. En el campo de la dermatología el uso de medicamentos cicatrizantes es muy amplio; la forma farmacéutica de estos medicamentos suelen ser geles, pomadas o cremas, principalmente obtenidas de plantas que poseen gran cantidad de triterpenos, gomas o alginatos (capacidad antioxidante) (1). Existen 87 especies de macroalgas en el mar peruano; las familias que destacan son las llamadas *Fucaceae* y *Laminariaceae* (ambas algas pardas), perteneciendo a esta última la especie a investigar “*Macrocystis pyrifera* (L)””; gracias a la corriente de Humboldt y a nuestro ecosistema marino, existen muchas más variedades por estudiar. (2)

Teniendo en cuenta que la piel es el órgano más amplio del cuerpo humano y por ende su integridad es vital, deducimos que la curación de heridas es un problema de la salud de gran importancia, ya que las laceraciones cutáneas, en particular las heridas, causan gran malestar en la calidad de vida de las personas que carecen de los recursos económicos para cumplir con un tratamiento de larga duración.

El alga marina utilizada en el presente trabajo corresponde a la especie *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo), la que fue recolectada en el Puerto San Juan de Marcona, con el objetivo de evaluar la actividad cicatrizante del extracto etanólico, buscando contribuir con nuevas alternativas a fármacos cicatrizantes y dermatológicos usados en la actualidad, que si bien es cierto demuestran eficacia clínica, tienen como desventaja el generar efectos adversos por su uso continuo. Un extracto con base en la fitoterapia sería una vía de solución como tratamiento alternativo.

Esta investigación está fundamentada en estudios previos que sirvieron como antecedentes.

Antecedentes internacionales:

Según, Rui-Bo J et al (2022), Realizaron un estudio que tuvo como objetivo “Determinar los efectos antidiabéticos y los posibles mecanismos de los polisacáridos de *Macrocystis pyrifera* (MPP) en ratas diabéticas”. Después de 8 semanas de tratamiento con MPP, se determinaron los perfiles séricos, la composición de las bacterias intestinales y las expresiones génicas relativas de las ratas. La administración de MPP mejoró eficazmente los síntomas diabéticos, la dislipidemia, el daño hepático y renal, el estrés oxidativo y la inflamación crónica en ratas diabéticas. Además, el tratamiento con MPP también podría mejorar notablemente la disbiosis microbiana al aumentar las bacterias beneficiosas y disminuir un patógeno bacteriano en las ratas diabéticas. El análisis

de RT-qPCR indicó que la intervención de MPP reguló significativamente la vía de señalización de IRS/PI3K/AKT y reguló a la baja las expresiones relativas de glucosa-6-fosfatasa (G-6-Pasa), fosfoenolpiruvato carboxinasa (PEPCK), acetil- CoA carboxilasa (ACC), hidroximetilglutaril CoA reductasa (HMGCR) y proteína de unión al elemento regulador de esteroides 1c (SREBP-1c) en ratas diabéticas. Estos resultados demostraron que MPP tenía potencial para ser explotado como alimentos funcionales o suplementos farmacéuticos para prevenir y tratar la diabetes (3).

Ahmad T et al (2022), realizaron un estudio donde se investigó “El impacto de los extractos de fucoidan, MPF y DP-MPF en un modelo de ratón de colitis aguda inducido por sulfato de sodio dextrano (DSS)”. Se administró DSS al 3% en ratones macho C57BL/6J durante un período de 7 días, y se coadministraron MPF y DP-MPF por vía oral a una dosis de 400 mg/kg de peso corporal. Nuestros resultados indicaron que MPF y DP-MPF previnieron significativamente la pérdida de peso corporal, mejoraron el índice de actividad de la enfermedad (DAI), restauraron la longitud del colon, redujeron el peso del colon húmedo, redujeron el agrandamiento del bazo y mejoraron la puntuación histopatológica general. De acuerdo con las funciones antiinflamatorias informadas, los extractos de fucoidan, MPF y DP-MPF redujeron significativamente los niveles colónicos de mieloperoxidasa (MPO), óxido nítrico (NO), malondialdehído (MDA) y aumentaron los niveles de enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT). Además, MPF y DP-MPF inhibieron significativamente los niveles de citocinas proinflamatorias en tejidos derivados del colon. En conjunto, nuestros resultados indican que MPF y DP-MPF exhibieron efectos antiinflamatorios y antioxidantes que representan una estrategia terapéutica prometedora para la cura de la EII (4).

Lin Kok JM et al (2022), realizaron un estudio donde se investigó las “Propiedades antiinflamatorias de un extracto de metanol:cloroformo, fracciones cromatográficas y ácidos grasos identificados de *Macrocystis pyrifera* (Linnaeus) C. Agardh. En monocitos THP-1 humanos estimulados con el ácido lipoteicoico agonista del receptor tipo Toll 2”, el extracto disminuyó el ARNm y los niveles de proteína de interleucina-1 β , interleucina-8 y proteína quimioatrayente de monocitos-1 en diversos grados en concentraciones no tóxicas. Los mayores efectos antiinflamatorios se obtuvieron cuando el extracto se aplicó entre 6 horas antes y 6 horas después de los estímulos. Se observaron niveles reducidos de factor nuclear potenciador de la cadena ligera kappa de las proteínas de señalización de las células B activadas en las células tratadas con extracto, con una disminución significativa en la abundancia de la proteína del factor de diferenciación mieloide 88 en relación con las células THP-1 estimuladas. El fraccionamiento cromatográfico del extracto produjo 40 fracciones, de las cuales la fracción F25 exhibió la mayor inhibición de la producción de proteína 1 quimioatrayente de monocitos en células THP-1 activadas. Los ácidos grasos abundantes en el extracto y F25 se identificaron y luego se analizaron, individualmente y en combinación, para determinar sus efectos antiinflamatorios. El ácido mirístico, el ácido palmitoleico y el ácido α -linolénico, pero no la combinación de ácidos

grasos, inhibieron la producción de proteína 1 quimioatrayente de monocitos estimulada por ácido lipoteicoico sin comprometer la viabilidad de las células THP-1. Estos hallazgos indican que el extracto rico en ácidos grasos y la fracción de *Macrocystis pyrifera* proporcionan efectos antiinflamatorios y citoprotectores que pueden ser beneficiosos para su uso terapéutico (5).

En el caso de Guano (2017), se tuvo por objetivo “Evaluar la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate en lesiones inducidas en ratones”. El material biológico consistió en: extracto y 24 ratones. La asignación de los grupos experimentales fue de 6 grupos: g.B. sin tratamiento; g. C/D con tratamiento a base de una crema con componentes como 0.5 g de sulfato de neomicina y 0.5 g de acetato de prednisolona y con alcohol con un porcentaje de 40; g. X/Y/Z con el extracto como tratamiento al 25/50/75%. En la cuantificación de metabolitos secundarios se muestra el contenido de flavonoides totales equivalentes a Quercetina; de 0,799 mg/g materia seca en el extracto Hidroalcohólico y de 2,93 mg/g materia seca en el extracto etanólico. A su vez en el contenido de fenoles equivalentes de ácido gálico de 1,29 mg/g materia seca en el extracto hidroalcohólico y 3.44 mg/g materia seca en el extracto etanólico. Tratamiento: Se administró durante 15 días por v. tópica c/12 horas. Para los análisis se midió la longitud de la herida y el tiempo de la cicatrización y se realizaron los análisis estadísticos de los resultados por medio del test Anova y Tukey, confianza al 95%, demostrando la efectividad del tratamiento administrado, siendo el extracto al 75% el más eficaz (6).

Díaz et al. (2017) Determinar cuantitativamente la concentración de flavonoides, comparar las actividades específicas de las enzimas antioxidantes catalasa y peroxidasa y “Evaluar el efecto cicatrizante in vivo de los diferentes extractos frescos de morera (hoja, corteza y raíz)”. En cuanto a la metodología, determinaron la concentración de flavonoides a través del método de cloruro de aluminio y se usaron ratas (machos, Wistar albinas) con 250g de peso aproximado, divididas en 5 grupos de 8 animales repartidos de manera aleatoria a los cuales se les hizo una incisión de 2cm y se les aplicó de manera tópica los tratamientos cada veinticuatro horas. Los resultados fueron los siguientes: cierre de heridas desde el 8vo día y un cierre completo al día 18 en los grupos I/II/V, demostrando la efectividad de los extractos tanto de raíz como de hojas. Las hojas tienen un mayor contenido de flavonoides, así como 8 mg de quercitina/g, lo que incrementa la actividad tanto de la enzima catalasa como de la peroxidasa en la cicatrización, comprobando que su administración tópica tanto de la raíz como de las hojas mostró heridas cerradas casi en su totalidad (7).

Antecedentes nacionales:

Gonzales Nieto E (2022), en su tesis de pregrado, buscó “Determinar el efecto del consumo de *Macrocystis pyrifera* en el hígado y la ganancia de peso en ratones alimentados con dieta alta en grasas”. Se utilizaron como material biológico 12 ratones hembras, siendo divididas en cuatro grupos con una alimentación diferenciada: normal (lípidos 21%); (lípidos 49%); con alga molida

de *Macrocystis pyrifera* al 0,1% y al 1%. El ensayo duró 21 días. Se registró el peso y se realizó un análisis histopatológico. No se registraron diferencias importantes en el peso de los grupos con DAG y tratamientos. La evaluación histopatológica que utilizó *Macrocystis pyrifera* al 0,1% y al 1% al destete presentó regeneración, reduciendo los focos proinflamatorios y de esteatosis hepática. Se concluye que la macroalga *Macrocystis pyrifera* al 0,1% genera mejoría, al destete, en el tejido hepático frente al daño del hígado (8).

Zevallos y Lavajos (2021), Evaluaron la “Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* en ratones albinos”, para ello se realizó un estudio experimental. Se recolectó la muestra en Madre de Dios; la muestra de 42 ratones fue dividida en 7 grupos. El método utilizado fue el m. tensiométrico de Vaisberg. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente en el software SPSS 26, dando como resultados: se presentó actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico con concentraciones al 5 y 10% similares al Bepanthen o grupo de control positivo. Los metabolitos secundarios detectados fueron compuestos quinónicos, flavonoides y taninos (9).

Molina y Torres (2020), Evaluar la “Actividad cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Phoradendron peruvianus* (Eichler) “Tullma” en ratas Holtzman. Para este estudio experimental, se utilizaron 48 ratas (albinas, Holtzman) distribuidas de manera aleatoria en seis grupos. El método utilizado fue el m. tensiométrico de Vaisberg y Co. con modificaciones. En comparación al grupo control (+) que tuvo un 63% de actividad, los grupos tratados con gel a base del extracto hidroalcohólico tuvieron: 59% de actividad (gel 5%), 39% de actividad (gel 10%). La efectividad cicatrizante se evaluó a través de un estudio histopatológico de los cortes en el lomo de las ratas que fueron tratadas, mostrando cicatrización total de 87.5% en el grupo que tuvo como tratamiento gel 5% y el control (+) un 63% (10).

Arenas (2018) cuyo objetivo fue “Evaluar el efecto cicatrizante in vivo del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L” sobre heridas superficiales en *Mus musculus* var. *albinus*, el estudio fue de tipo analítico, experimental, preclínico. La población estuvo conformada por ratones albinos y la muestra por 36 ratones *Mus musculus* var. *albinus*, Cepa Balb/C-54, con pesos entre 25 ± 5 g, divididos en seis grupos de seis ratones cada grupo donde el primero recibió SSF 2 mL/Kg, el 2° sangre de grado, 3° cicatricure y los grupos 4°, 5° y 6° extracto de guanábana en concentraciones de 10, 50 y 100% respectivamente, se siguió el método de test de cicatrización, según Villegas L, 1997, los ratones fueron aclimatados y se depilaron los lomos 24h antes de iniciada la experimentación, donde se realizaron dos cortes de 1 cm en la región escapular, se aplicaron los tratamientos por vía tópica diariamente, por un período de 07 días, al octavo día los ratones fueron sacrificados y se midió la fuerza de tensión con un dinamómetro, tras aplicar el test de cicatrización, se pudo apreciar que la aplicación a una concentración del 100% se obtiene una mejor cicatrización a diferencia del cicatricure en gel, concluyendo que el extracto etanólico

de las hojas de *Annona muricata* L “guanábana” posee efecto cicatrizante sobre heridas superficiales en *Mus musculus* var. *albinus* (11).

Castro A et al (2016), donde se “Cuantificaron compuestos fenólicos y se evaluó los efectos antioxidantes, antimicrobianos, antielastasa, anticolagenasa y fotoprotectores en dermocosméticos elaborados con el extracto hidroalcohólico de *M. pyrifera*”. Los métodos fueron para la cuantificación de fenoles por Folin-Ciocalteu, la actividad antioxidante, CDP y captación del radical libre catiónico ABTS+ para la actividad antioxidante, difusión de agar para la actividad antimicrobiana, por el método de difusión en agar. enzimas elastasa pancreática porcina y ChC para la actividad antielastasa y anticolagenasa, con crema del extracto en concentraciones del 5%, 10% y 15% sobre la piel de ratones y el posterior análisis histopatológico para la actividad fotoprotectora. El valor de los polifenoles fue de $1,03 \pm 0,12$, en cuanto a los resultados, fueron: actividad antioxidante ABTS+ IC50 (173,22 $\mu\text{g/mL}$), frente al valor del trolox IC50 (3,23 $\mu\text{g/mL}$), y para CDP IC50 (669,7 $\mu\text{g/mL}$) por encima del ácido ascórbico IC50 (33 $\mu\text{g/mL}$); el efecto antimicrobiano y las actividades antienzimáticas se evaluaron con cepas y las zonas de inhibición no fueron significativas. Los resultados demostraron efecto fotoprotector in vivo contra radiación UV-B, actividad antioxidante y composición fenólica (12).

Castro A et al (2015), quienes realizaron un estudio para “Evaluar la fotoprotección de una crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de *M. pyrifera* frente a bloqueadores solares (in vivo)”. El extracto hidroalcohólico se obtuvo por maceración de 300 g de *Macrocystis pyrifera*. Se formuló y diseñó un bloqueador dermocosmético con el extracto del alga al 5, 10 y 15%, conformados por alcohol cetílico y alcohol estearílico 50/70%. Se utilizaron 35 ratones albinos machos y adultos *Mus musculus* cepa Bald C53 de 30 g de peso en promedio. La fotoprotección se evaluó in vivo a través de aplicación tópica en la piel de los ratones (tercio anterior dorsal), los que se distribuyeron en 7 grupos de 5: grupo 1 (blanco); grupo 2 (control) no se le aplicó crema y se le irradió con luz UV-B; grupos 3 y 4 utilizaron un tratamiento con bloqueadores solares y fueron irradiados con luz UV-B; grupos 5, 6 y 7 (intervención) se les aplicó el producto elaborado y se le irradió con luz UV-B. Se evaluó el efecto fotoprotector con análisis histológico macroscópico y microscópico. Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de *Macrocystis pyrifera*, posee efecto fotoprotector in vivo ante la irradiación UV-B (13).

Antecedentes locales:

Quispe (2021), cuyo objetivo era “Determinar el efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas *Leucaena leucocephala* (Lam)”, e identificar los metabolitos secundarios presentes mediante un tamizaje fitoquímico preliminar. Para ello el extracto etanólico fue obtenido por extracción mediante reflujo, en el que se evaluó la actividad cicatrizante a diferentes concentraciones por el método tensiométrico de Vaisberg y col. Para el análisis fitoquímico se utilizó la marcha fitoquímica propuesta por Olga Lock. Los metabolitos identificados fueron:

grupos aminos libres, catequinas, saponinas, triterpenoides, esteroides, antraquinonas, grupos fenólicos y flavonoides. El extracto a una concentración del 110% tuvo un porcentaje de eficacia del 214.1% respecto al grupo control (-) (14).

Trillo (2021), se “Determinó la presencia de metabolitos secundarios por reacciones de precipitación y/o coloración y la actividad antimicótica se realizó por el método de difusión en agar”. Los metabolitos encontrados fueron triterpenos y esteroides, lactonas, alcaloides, flavonoides y antraquinonas. Se comprobó que la sensibilidad para *A. niger* es alta (10 µg/mL con inhibición del 70%), en cambio para *C. albicans* es baja (40 µg/mL con inhibición del 38%) (15). Mejía (2021), el objetivo fue “Evaluar la actividad cicatrizante de la crema elaborada con el extracto etanólico seco de las vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) (Molina) Kuntze en ratones albinos Cepa Balb C”. Se elaboró la crema de extracto etanólico seco de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze en tres concentraciones diferentes, 1%, 2% y 5%, a las que se le realizaron los controles de calidad respectivos como: los ensayos organolépticos, conductividad, extensibilidad y estabilidad térmica. Los ratones (Cepa Balb C./albinos) fueron divididos en cuatro grupos de manera aleatoria: g.1 (blanco), g.2 (control -), g.3 (control positivo) y g4 (tratamiento). Se aplicó de manera tópica cada doce horas durante siete días, posteriormente se hizo la determinación de cicatrización, obteniendo como resultado que la crema al 2% de concentración favorece la cicatrización en ratones (16).

Quispe Yataco A (2020), en su investigación “Procesamiento de extracción e importancia comercial de las macroalgas (algas pardas) en la zona de San Juan de Marcona – Ica” desde la página N° 18 hasta la N° 20, hace referencia al alga *Macrocystis pyrifera*, hizo una descripción y detalló su composición química: humedad, proteínas, lípidos, cenizas, fibra cruda, carbohidratos, calorías, nitrógeno soluble, pH y cloruro de sodio; así mismo de sus microelementos: Fe, Mn, Cu, Zn, Sn, Pb, As y Hg; y de sus macroelementos: Ca, Mg, Na, K, P y S (17).

Para el desarrollo de la presente investigación nos planteamos los siguientes problemas y objetivos:

Problema general

¿Presenta el extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo) actividad cicatrizante sobre heridas superficiales en *mus musculus albinus*?

Problemas específicos

- a. ¿Qué tipo de metabolitos secundarios presenta el extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo)?
- b. ¿Cuál será la concentración ideal del extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo) que tendrá efecto cicatrizante?

Objetivo general

Determinar la actividad cicatrizante del extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo) sobre heridas superficiales en *mus musculus albinus*

Objetivos específicos

- a) Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo)
- b) Determinar la concentración efectiva cicatrizante del extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo)

Hipótesis general

El extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo) posee actividad cicatrizante sobre heridas superficiales en *mus musculus albinus*.

Hipótesis específicas

- a) El extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo) posee metabolitos secundarios con actividad cicatrizante.
- b) Determinar la concentración efectiva cicatrizante del extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo)

Tabla 1 Variables de la Investigación

Variable	Definición	Indicador	Índice
Extracto etanólico de <i>Macrocystis pyrifera</i> (L) (sargazo)	Es una macroalga flotante que forma colonias que llegan a cubrir grandes extensiones y que se mueven de acuerdo con las corrientes oceánicas. Flotan en masa en el mar, se desplazan en aguas someras y acaban en las playas	Metabolitos secundarios	Alcaloides, Taninos, Flavonoides, Esteroides y/o Triterpenoides compuestos fenólicos azúcares reductores aminoácidos
Actividad cicatrizante	La cicatrización es un proceso natural que posee el organismo con la finalidad de restaurar las células y tejidos dañados	Actividad cicatrizante concentración de la aplicación	Fuerza de tensión concentración del extracto 10% 30% 60%

1.1 Marco teórico

✓ Piel.

Recubre la superficie corporal.

- a. Epidermis: Es la capa externa de la piel.
- b. Dermis: Forma parte del mayor porcentaje de la piel y es cuando se lesiona esta capa que se produce dolor.
- c. Hipodermis: Capa profunda de la piel formada por adipocitos. (18)

✓ Heridas.

Es una lesión en una parte de nuestro organismo producida por un agente externo. (19)

✓ Cicatrización de las heridas.

Es un proceso fisiológico en el que se regeneran los tejidos lesionados.

Fases:

- a. Inflamatoria Los neutrófilos, linfocitos y macrófagos evitan la proliferación de microorganismos. Hay formación de hilos de fibrina.
- b. Proliferativa Se genera proliferación de colágeno y fibroblastos.
- c. Remodelación Se forma el tejido cicatricial. (20) (21)

✓ Tratamiento de las heridas.

Farmacológico.

- a. Tópica, la cual se aplica de manera externa sobre la herida. La forma farmacéutica más utilizada es el gel. (21)
- b. De uso parenteral, inyecciones. (22)

Fitoterapia.

Uso de plantas medicinales que promuevan la cicatrización mediante la aplicación externa o tópica. (14).

✓ POSICIÓN TAXONÓMICA.

División: Ochrophyta

Clase: Phaeophyceae

Subclase: Fucophycidae

Orden: Laminariales

Familia: Laminariaceae

Género: *Macrocystis*

Especie: *Macrocystis pyrifera* (L) C. Agardh

1.2 Marco conceptual

✓ Cicatrización.

Es un proceso fisiológico en el que se regeneran los tejidos lesionados. Posee 3 fases, en donde los linfocitos, macrófagos y neutrófilos evitan que el tejido sea infectado por microorganismos. A su vez se empiezan a formar hilos de fibrina, generando la proliferación de colágeno y fibroblastos para finalmente formar el tejido cicatricial.

✓ Heridas.

Es una lesión en una parte de nuestro organismo producida por un agente externo que dependiendo de su gravedad puede llegar a presentar complicaciones de leves a severas.

✓ Heridas agudas.

Pueden ser por cortes, objetos punzantes, raspado, golpes, quemaduras y otros.

✓ Heridas crónicas.

Presenta una curación con retraso o ausencia de formación de nuevos tejidos (22).

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1 Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo de la investigación

La presente investigación es de tipo aplicada, puesto que se desarrolló en un contexto determinado; en este caso sobre el uso de un alga con potencial aplicación terapéutica con el objetivo de evaluar su efecto cicatrizante respecto a los metabolitos secundarios identificados.

2.1.2 Diseño de investigación

El diseño experimental, según Fideas G. Arias (2012), define la investigación experimental como un proceso que consiste en someter a un objeto o grupo de individuos, a determinadas condiciones, estímulos o tratamiento (variable independiente), para observar los efectos o reacciones que se producen (variable dependiente).

La presente investigación es de diseño experimental dado que, se somete a un grupo de unidades (ratones) a diferentes concentraciones de la variable independiente (efecto cicatrizante), evaluando la causa-efecto.

Es prospectivo porque las observaciones se realizaron conforme transcurrió el tiempo, y transversal porque al final del experimento se realizó una sola medida de tensión de apertura de herida.

En el Perú se realizaron estudios para evaluar el efecto cicatrizante de plantas medicinales utilizando el método tensiométrico con estudios histológicos. A nivel mundial se evalúa el éxito de la cicatrización experimental por diversos métodos, como Raimondi y col (23) (24).

Unidad de análisis:

Ratones *mus musculus albinus* que presentaron heridas inducidas en el dorso de la piel.

Población y muestra:

- Población vegetal: La especie *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo)
- Población animal: Ratones albinos (*mus musculus albinus*).
- Muestra vegetal: Extracto etanólico de especie *Macrocystis pyrifera* (sargazo)
- Muestra animal: 25 ratones albinos (*mus musculus albinus*) de 26-30 gramos, divididos en 5 grupos de tamaño n=5.

2.2 Materiales e instrumentos para la investigación

2.2.1 Reactivos y/o insumos

Tabla 2 Listado de reactivos y/o insumos utilizados en la investigación

Lista de reactivos y/o insumos	
Etanol Q.P	Reactivo de Gelatina
Diclorometano Q.P	Reactivo de Wagner
Acido Clorhídrico Q.P	Reactivo de Mayer
Tween 80	Reactivo de Dragendorff
Tween 20	Suero Fisiológico
Reactivo de Rosenheim	Reactivo de Shinoda
Solución de Cloruro de Sodio	Agua Destilada
Reactivo de Ninhidrina	Reactivo de Cloruro Férrico
Limaduras de Magnesio	Ácido Sulfúrico Concentrado
Reactivo de Lieberman-Burchard	Anhidro Acético
Alcohol 60°	Reactivo de Borntrager

2.2.2 Equipos de laboratorio

Tabla 3 Listado de equipos de laboratorio utilizados en la investigación

Lista de equipos de laboratorio	
Balanza Analítica	Estufa
Evaporador Rotatorio	Equipo de Reflujo
Dinamómetro	

2.2.3 Materiales de laboratorio

Tabla 4 Listado de materiales de laboratorio utilizados en la investigación

Listado de materiales de laboratorio	
Pentobarbital sódico	Sutura seda negra 5/0 con aguja
Crema Depilatoria (marca - Veet)	Hojas de Bisturí
Sangre de Drago (marca- Inkanat)	Papel Filtro
Algodón	Papel Aluminio
Papel Kraft	Frascos gotero de vidrio ambar

2.3 Proceso de la obtención del extracto etanólico

2.3.1 Recolección:

El alga fue recolectada en la Playa Las Loberas en el distrito de San Juan de Marcona, provincia de Nazca, departamento de Ica (Figura N°1). Luego se envió una muestra del alga para su clasificación a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. (Anexo 2).



Figura 1 Ubicación playa Las Loberas – San Juan de Marcona

2.3.2 Selección:

Se realizó la selección de las algas que se encontraban en buen estado, es decir no estén picadas, amarillas u otras características inusuales del alga. **Figura N°2** .



Figura 2 Selección de Algas (San Juan de Marcona)

2.3.3 Lavado y secado.

Se realizó un lavado al alga para extraer todo tipo de suciedad, arena y resto de sal que puedan interferir en nuestra materia de estudio. Luego se secaron en un ambiente ventilado y bajo sombra durante 15 días. Según se muestra en las siguientes figuras.



Figura 3 Lavado de Algas



Figura 4 Secado de Algas

2.3.4 Corte y maceración del alga

Se realizó el corte de las algas en pequeñas fracciones, luego fue pesado en una balanza analítica obteniendo 2 kilogramos de algas.

El material obtenido se maceró por 7 días con etanol de 96° en un recipiente de vidrio, fue colocado en un ambiente ventilado y protegido de la luz solar.

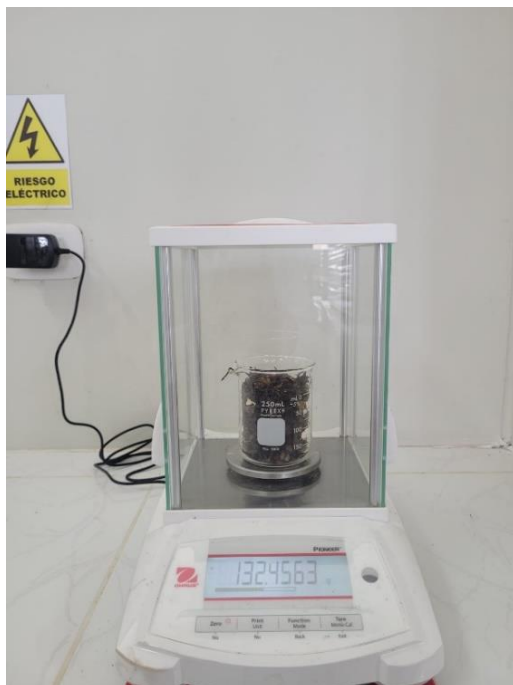


Figura 5 Pesado del Alga



Figura 6 Macerado del Alga

2.3.5 Filtración, extracción por reflujo y sequedad del extracto etanólico.

Luego de los 7 días de maceración se llevó a cabo la filtración para el cual se colocó un papel filtro dentro de un embudo con el objetivo de obtener una mezcla líquida.

Para la extracción por reflujo se llevó a ebullición la mezcla empleando etanol de 96° por un tiempo de 4 horas con el objetivo de extraer activos no termosensibles.

Los filtrados se llevaron a sequedad en un evaporador rotatorio a 40°C, con la finalidad de eliminar el solvente de la muestra.

La muestra fue colocada en un recipiente a temperatura ambiente con la finalidad de obtener un extracto seco. Según se muestra en las siguientes figuras.



Figura 7 Método de Filtración



Figura 8 Método de Extracción por Reflujo



Figura 9 Eliminación del solvente con el evaporador rotatorio

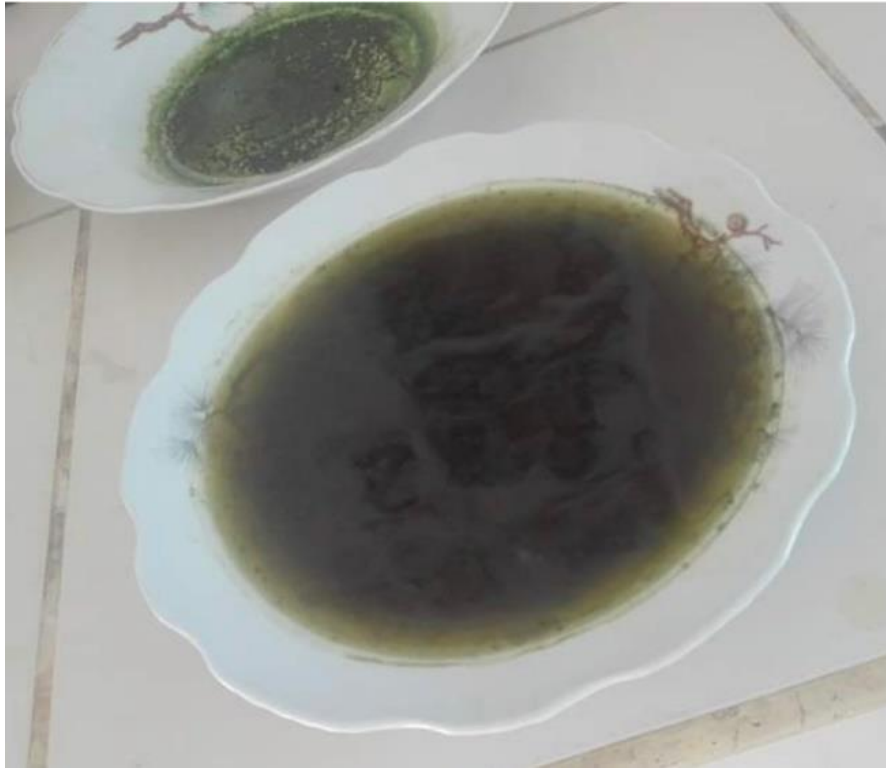


Figura 10 Material Obtenido del Evaporador Rotatorio



Figura 11 Extracto seco

2.4 Análisis fitoquímico

Se siguió el procedimiento descrito por Olga Lock “Investigación Fitoquímica” para obtener cinco fracciones sobre las cuales realizamos las reacciones de identificación de los metabolitos secundarios usando reactivos de coloración y precipitación (ver anexos)



Figura 12 Reacción de gelatina para detección de taninos

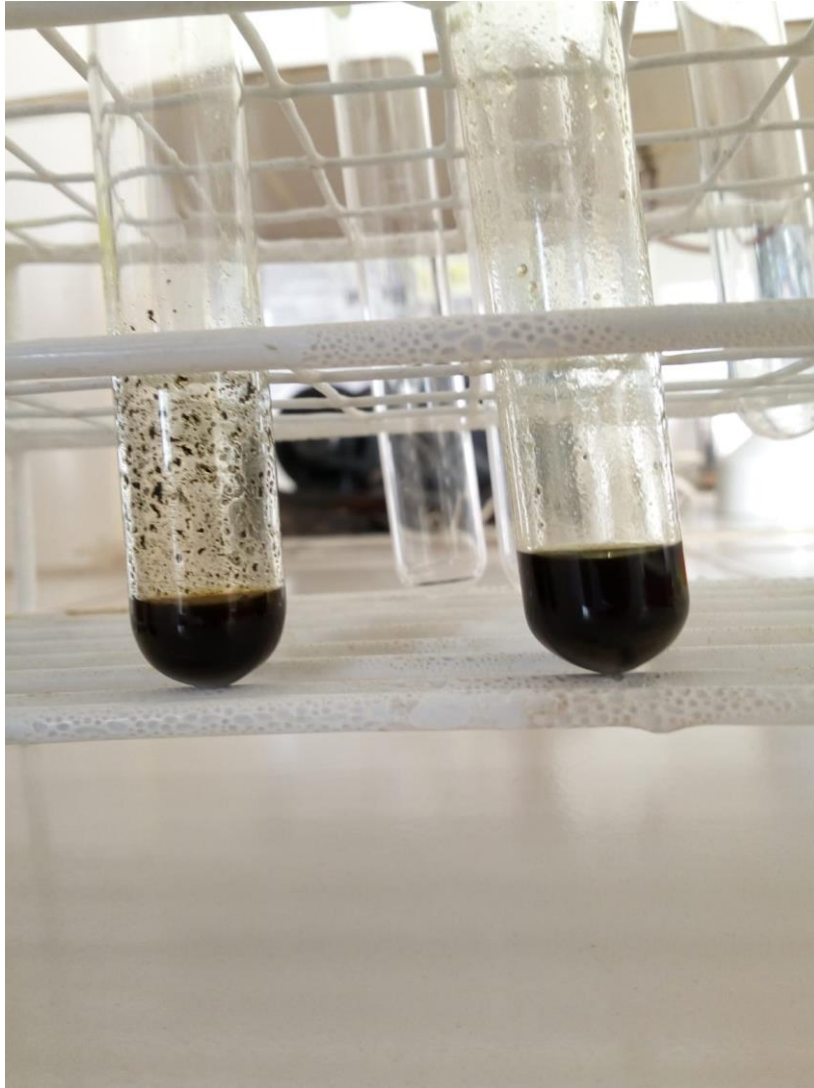


Figura 13 Reacción de cloruro férrico para detección de grupos fenólicos.



Figura 14 Reacción de ninhidrina para detección de aminoácidos.

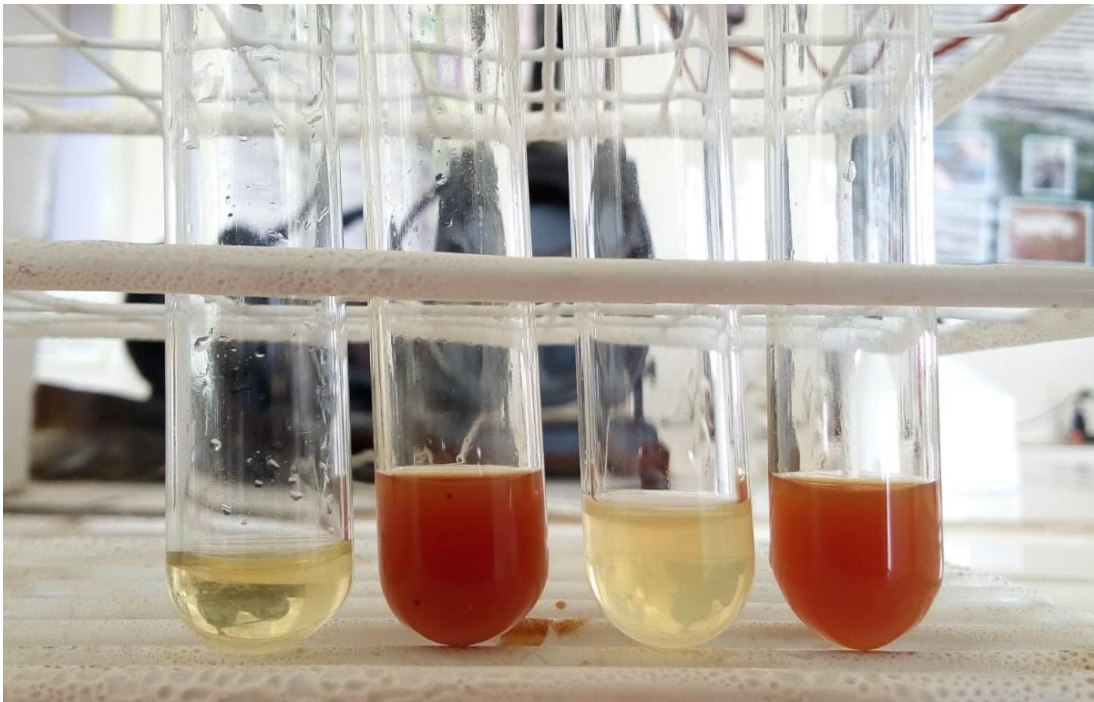


Figura 15 Reacción de Shinoda para detección de flavonoides.



Figura 16 Reacción de Liebermann, Burchard para detección de triterpenos y/o esteroides.

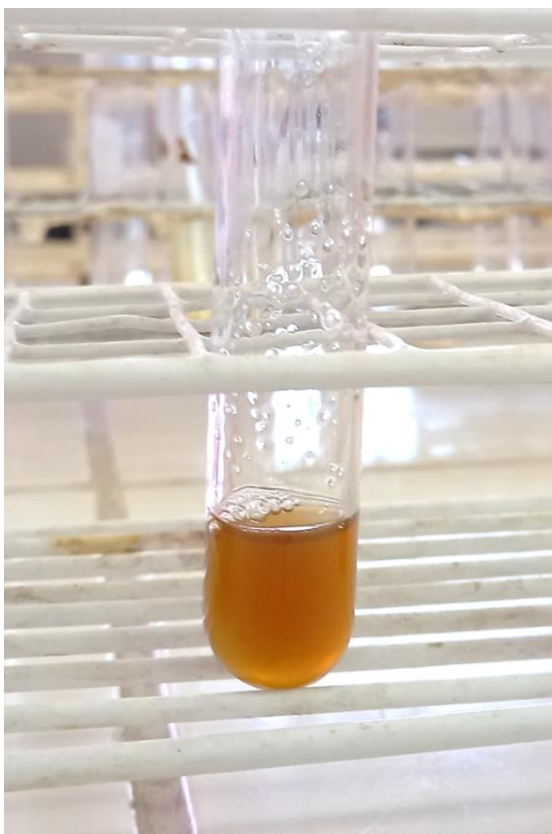


Figura 17 Reacción de Bornträger para detección de Antraquinonas.



Figura 18 Reacción de Dragendorff, Mayer, Wagner para detección de alcaloides.

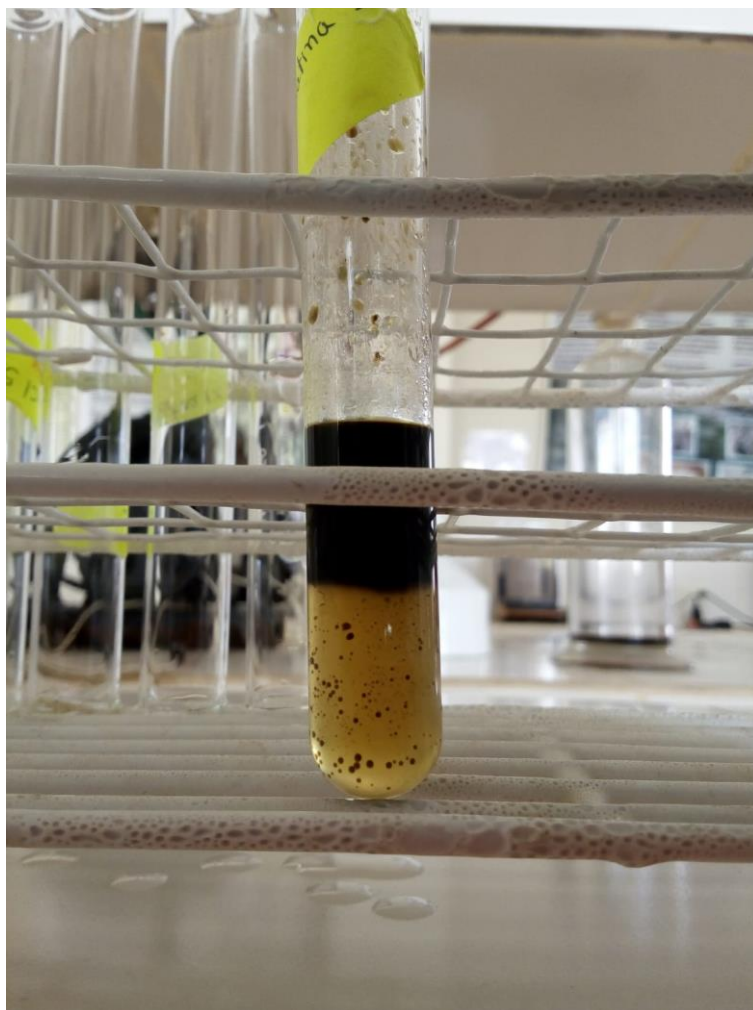


Figura 19 Reacción de Rosenheim para detección de catequinas.

2.5 Prueba de solubilidad

La prueba de solubilidad se realizó con el objetivo de conocer cual es el mejor solvente para nuestro extracto, se realizó la prueba con 3 solventes los cuales fueron: Cloruro de Sodio, Agua destilada y Alcohol 60°. Los resultados obtenidos arrojaron que el solvente indicado es el alcohol de 60°. **Ver tabla N° 5.**

Tabla 5 Prueba de Solubilidad del extracto etanolico del Alga *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo)

SOLVENTE	RESULTADO
Cloruro de Sodio	Insoluble
Agua destilada	Insoluble
Alcohol 60°	Soluble

2.6 Preparación del extracto a las concentraciones 10%, 30% y 60%.

En esta etapa se procede a preparar las concentraciones del extracto a estudiar. Se inicia preparando las concentraciones del extracto a estudiar **Ver Tabla N°6** , luego de obtener las concentraciones se procedió a colocar los extractos correspondientes en recipientes pequeños con tapa gotero de color ambar.

Tabla 6 Preparación de las concentraciones del extracto etanólico del Alga *Macrocystis pyrifera* (L)(sargazo)

N° DE EXTRACTO	PREPARACIÓN
Extracto N°1	10g (extracto seco) X 100ml (alcohol 60°)
Extracto N°2	30g (extracto seco) X 100ml (alcohol 60°)
Extracto N°3	60g (extracto seco) X 100ml (alcohol 60°)



Figura 20 Extracto etanólico al 10%, 30% y 60%.

2.7 Preparación de especímenes:

Se utilizó materiales de la Tabla 4. El material biológico fue un grupo de 25 ratones albinos *Mus musculus* (Cepa: Balb/c/CNPB), con un peso entre los 26 a 30 g, los cuales se dividieron aleatoriamente en 5 grupos de 5 ratones cada uno.

- **Grupo 1:** Control (-) Alcohol 70°
- **Grupo 2:** Control (+): Extracto de resina de *Crotón lechleri* “sangre de grado” (Sangre de Drago ®)
- **Grupo 3, 4 y 5:** Extracto al 10 %, 30% y 60% de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo)

Descripción de la técnica

La anestesia fue administrada por vía intraperitoneal con una dosis de 95 mg/kg de pentobarbital sódico a cada ratón (dosis fue obtenida mediante un ensayo preliminar) (25). Se depiló a los ratones en el área escapular, se les pesó y colocó en jaulas independientes.



Figura 21 Administración de pentobarbital por vía intraperitoneal a ratones



Figura 22 Aplicación de crema depilatoria a ratones anestesiados



Figura 23 Depilación de ratones



Figura 24 Ratones anestesiados, observados mediante color de cola y con temperatura controlada para prevención de hipotermia.



Figura 25 Aislamiento en jaulas personales

Se les hizo una incisión de 1 cm previa desinfección de la zona con sutura de punto simple usando seda negra 4.0. El tratamiento administrado por vía tópica a los ratones fue el extracto etanólico al 10%, 30%, 60%. Como control (+) se usó extracto de resina de *Crotón lechleri* “sangre de grado” (SANGRE DE DRAGO®), y como control (-) alcohol al 70%. Los estudios se realizaron cumpliendo el código de Ética para el uso de animales de experimentación para una buena manipulación (26).



Figura 26 Aplicación de extracto etanólico posterior a incisión



Figura 27 Postoperatorio

Durante el postoperatorio se mantuvo en observación a cada ratón. Al recuperarse se les aisló. Los tratamientos y controles se administraron cada 8 horas.

2.8 Evaluación de la actividad cicatrizante

La actividad cicatrizante se determinó por el método Tensiométrico de Vaisberg y col. Que se basa en la medida de la resistencia de la herida a la tensión (medida en mililitros de agua) su objetivo es abrir el área lesionada de 1 cm de longitud (27).

Método:

Tensiómetro de Vaisberg Col.

Materiales, Instrumentos y fármacos:

- Disección
- Dinamómetro
- Pentobarbital sódico (Halatal ®)
- Extracto al 10%, 30% y 60% de *Macrocystis pyrifera* (sargazo)
- *Crotón lechleri* “sangre de grado” (Sangre de Drago ®)

Descripción de la técnica

Al transcurrir 48 horas de tratamiento se practicó la eutanasia por sobredosis de pentobarbital sódico 250 mg/kg. Se retiraron los puntos de sutura y se colocó a los animales en posición de cúbito ventral sobre el dinamómetro insertando las agujas en direcciones opuestas a 0,5 cm de los bordes de la lesión.



Figura 28 Evaluación de la actividad cicatrizante

El agua contenida en la bureta se dejó gotear hasta generar la fuerza de tensión necesaria y así abrir la herida en toda su longitud. Los gastos fueron anotados para su posterior análisis estadístico.

Para calcular la eficacia de cicatrización del extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (*sargazo*) se tomó como el 100% o referencia los mg necesarios para abrir la piel intacta usando los datos conseguidos por el método de fuerza de tensión, según Vaisberg y Col, aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ ACTIVIDAD CICATRIZANTE} = \frac{\text{Miligramos necesarios para abrir la cicatrizada} \times 100}{\text{Miligramos necesarios para abrir la piel intacta}}$$



Figura 29 Método tensiómetro de Vaisberg Col. (vista panorámica)



Figura 30 Método tensiómetro de Vaisberg Col (vista detallada)

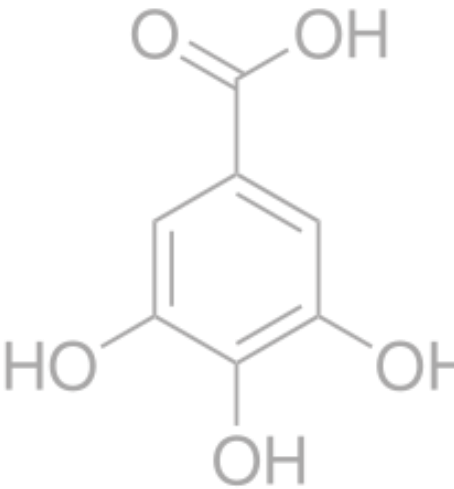
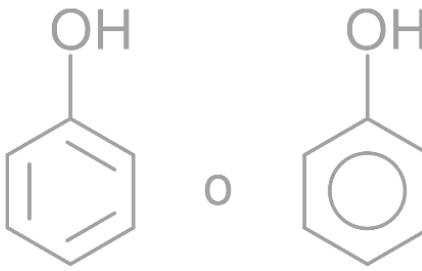
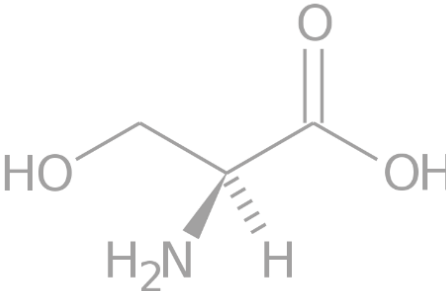
2.9 Aspectos éticos

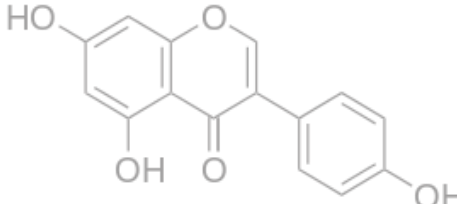
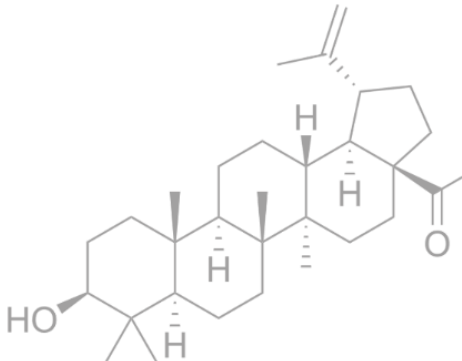
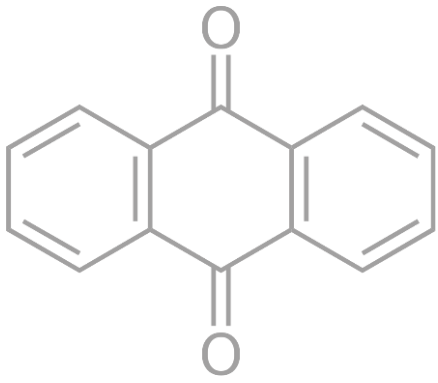
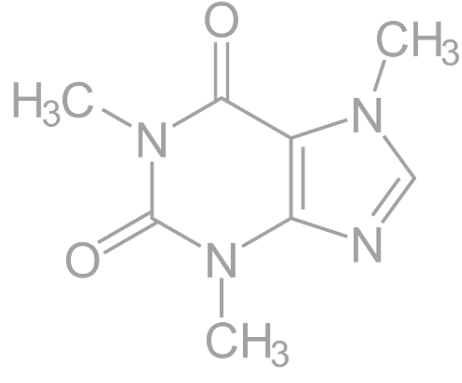
Se tuvieron en cuenta los siguientes principios éticos según la INS (Instituto Nacional de Salud) y el Reglamento de ética.

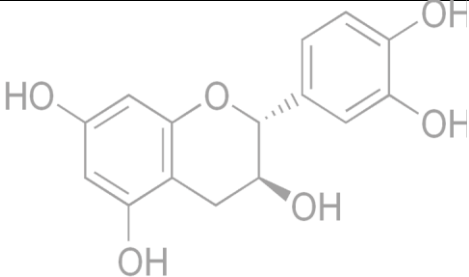
- Se priorizó la utilización de especies inferiores antes que las superiores en lo posible.
- Las condiciones de vida de los animales fueron apropiadas a su especie y contribuyeron a su salud y confort.
- Se evitó o minimizó las molestias, distrés y dolor a los animales, consistente con un buen diseño de investigación.
- Los procedimientos que pudieron causar un momento de ligero dolor o distrés a los animales fueron motivo para ejecutarles con sedación apropiada, analgesia o anestesia.
- Los animales que de otra manera experimentaron dolor severo/crónico, o distrés que no se pudo aliviar, fueron sacrificados sin dolor al final del procedimiento.

III. RESULTADOS

Tabla 7. Resultados del Tamizaje Fitoquímico del extracto seco del alga *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo)

Estructura Química	Metabolitos	Reacción	<i>Macrocystis pyrifera</i> (L)
	Taninos	Gelatina	-
	Grupos fenólicos	Cloruro férrico	-
	Aminoácidos	Ninhidrina	+

Estructura Química	Metabolitos	Reacción	<i>Macrocystis pyrifera (L)</i>
	Flavonoides	Shinoda	+
	Triterpenos y/o esteroides	Liebermann Burchard	+
	Antraquinonas	Bornträger	-
	Alcaloides	Dragendorff Mayer Wagner	-

Estructura Química	Metabolitos	Reacción	<i>Macrocystis pyrifera</i> (L)
	Catequinas	Rosenheim	+

3.1. Análisis e interpretación de los resultados

- ✓ Se procesaron los valores cuantitativos (gasto mL) en el software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versión 25, año 2017.
- ✓ Las pruebas utilizadas fueron ANOVA y Dunnett.

Tabla 8 Actividad cicatrizante del extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (sargazo)

Factor	N	Media	Agrupación
Pos1 (control)	5	54.400	A
10%	5	49.500	A
30%	5	38.20	
60%	5	22.80	
Neg	5	19.400	

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

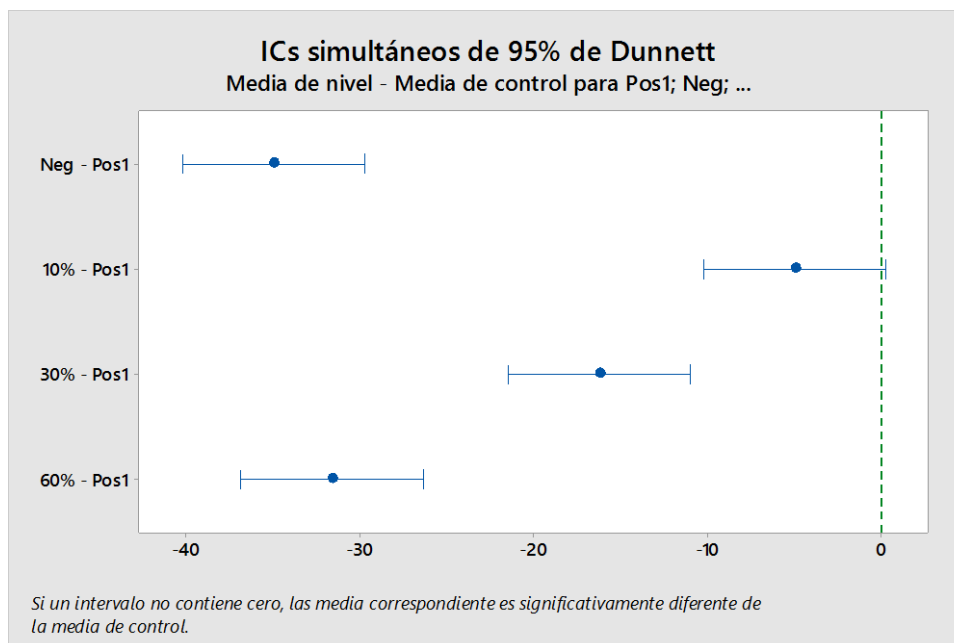


Figura 31 ICs simultáneos de 95% de Dunnett

Tabla 9 Porcentaje de Actividad Cicatrizante

Grupo Experimental	% Actividad cicatrizante
Control Positivo	180.41%
Extracto al 10%	155.15%
Extracto al 30%	96.90%
Extracto al 60%	17.52%
Control Negativo	-

Tabla 10 Gasto en mL de grupo control (-) según método de Tensiómetro de Vaisberg Col

Grupo control (-)		
Ratón N°	Peso	Gasto mL
(21+21+17+19+19)/5		
1	32.6 g	21
2	32.9 g	21
3	33.1 g	17
4	33.2 g	19
5	31.0 g	19
Promedio de los mL gastados:		19.4 mL

Tabla 11 Gasto en mL de grupo control (+) según método de Tensiómetro de Vaisberg Col.

Grupo control (+)		
Ratón N°	Peso	Gasto mL
1	32.4 g	53
2	33.2 g	55
3	31.3 g	56
4	33.2 g	55
5	32.2 g	53
Promedio de los mL gastados:		54.40 mL

Tabla 12 Gasto en mL de grupo N° 3: Extracto al 10% según método de Tensiómetro de Vaisberg Col.

Grupo N° 3: Extracto al 10%		
Ratón N°	Peso	Gasto mL
1	31.1 g	49
2	30.3 g	50
3	32.4 g	51
4	29.4 g	48
5	29.9 g	49.5
Promedio de los mL gastados:		49.50 mL

Tabla 13 Gasto en mL de grupo N° 4: Extracto al 30% según método de Tensiómetro de Vaisberg Col.

Grupo N° 4: Extracto al 30%		
Ratón N°	Peso	Gasto mL
1	31.5 g	37
2	33.1 g	35
3	29.2 g	34
4	29.7 g	36
5	28.4 g	49
Promedio de los mL gastados:		38.2 mL

Tabla 14 Gasto en mL de grupo N° 5: Extracto al 60% según método de Tensiómetro de Vaisberg Col.

Grupo N° 5: Extracto al 60%		
Ratón N°	Peso	Gasto mL
1	30.7 g	23
2	29.8 g	25
3	31.4 g	20
4	32.5 g	25
5	31.5 g	21
Promedio de los mL gastados:		22.8 mL

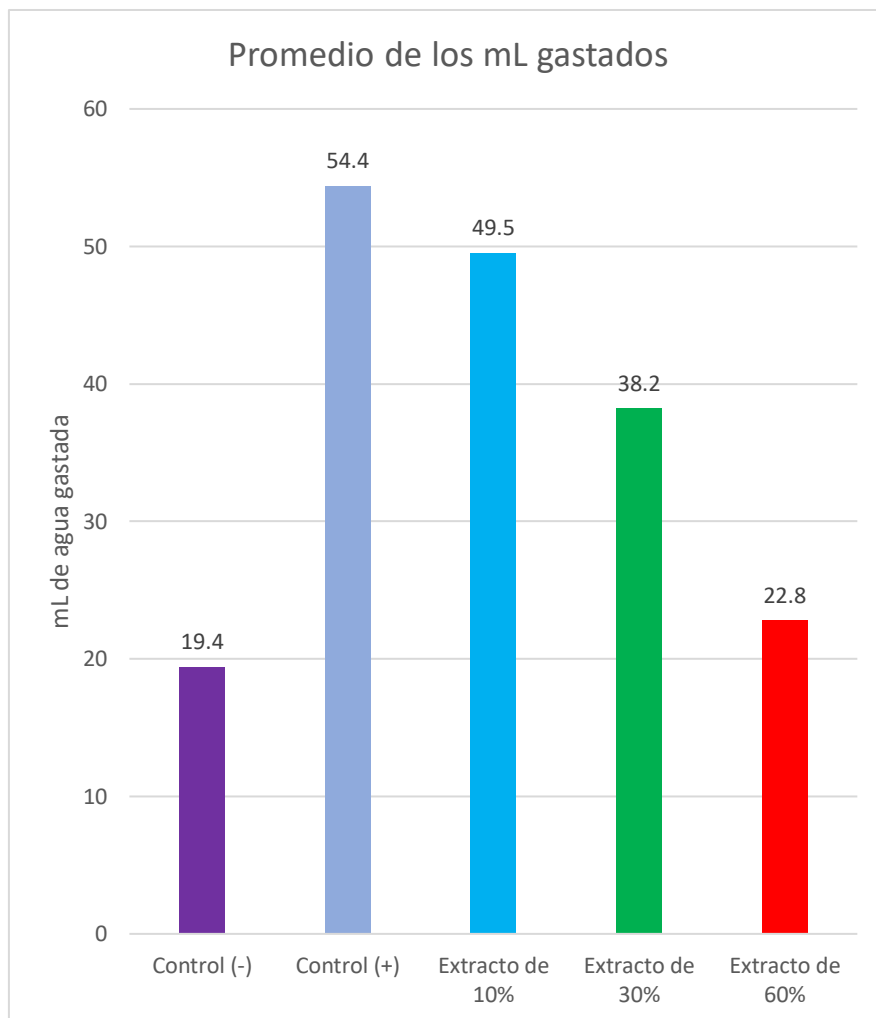


Figura 32 Promedio de los mL gastados

IV. DISCUSIÓN.

Una herida es una pérdida de continuidad normal de los tejidos, mientras que el poder de autorreparación que tienen todos los seres vivos se denomina “cicatrización” (28). La cicatrización es un proceso biológico de reacciones bioquímicas y mitóticas, con tendencia a la curación y reparación de las úlceras y heridas (29).

Los estudios de la presente investigación se realizaron cumpliendo el código de Ética para el uso de animales de experimentación para una buena manipulación y es por ello que se realizaron ensayos preliminares para obtener la dosis óptima de anestesia, la cual fue de 95 mg/kg de pentobarbital sódico, lo que marcó una diferencia importante entre las dosis indicadas en manuales. Esto sugiere que con el pasar de los años, los ratones pueden haber mutado o haberse vuelto más resistentes a los anestésicos administrados.

También existe la posibilidad de que la dosis fuera mayor debido a la farmacocinética y farmacodinamia del pentobarbital sódico en relación a su liposolubilidad pues el material biológico utilizado se conforma de ratones albinos *Mus musculus* hembras, lo que pudo ser otra causa para que las dosis recomendadas años anteriores no fueran suficientes, ya que los mamíferos hembras poseen un mayor porcentaje de grasa corporal. Durante el proceso de la técnica trabajada, también se observó que mantener la temperatura estable y regulada del ratón, evitó que sufra de hipotermia perioperatoria y ayudó a su recuperación.

Se analizó la actividad cicatrizante del alga *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo) a concentraciones de 10%, 30% y 60%. Al compararlo con el control positivo “Sangre de Grado”, encontramos que no hay diferencia con el extracto de 10% (Prueba de Dunnett), lo que nos indica que esta concentración tuvo mayor eficacia en la cicatrización de heridas cortopunzantes en ratones en comparación de las concentraciones al 30% y 60%. Asimismo, se comparó los metabolitos secundarios con la tesis del autor Saravia Borda Jennifer “Determinación de compuestos fenólicos y de la actividad antioxidante del alga *Caulerpa filiformis* que habita en la reserva nacional de paracas” donde se evidencia que el alga *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo) presenta adicionalmente los metabolitos aminoácidos y catequinas en comparación del alga *Caulerpa filiformis* estudiada por el autor.

La evaluación en dinamómetro y el análisis estadístico demuestran la actividad cicatrizante del alga. La actividad puede estar relacionada a las catequinas, triterpenos, flavonoides y aminoácidos principalmente (histidina, lisina, fenilalanina y valina) que intervienen en el crecimiento y reparación de tejidos. Asimismo, el polisacárido Fucoidan, relevante en los procesos celulares, regeneración de tejidos y efectos inhibitorios en el proceso de envejecimiento de la piel. Cabe

resaltar que, mediante estudios previos, el alga *Macrocystis pyrifera* (L)(sargazo) a las concentraciones evaluadas es inocua (30) (31).

Los resultados del presente estudio son innovadores pues a partir estos se puede desarrollar un fitomedicamento de bajo costo y gran aceptación, tratando de alinear los incentivos de la industria farmacéutica con los intereses sociales.

V. CONCLUSIONES.

La actividad cicatrizante del extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo) a las concentraciones de **60% y 30%** presenta diferencia significativa respecto al control (+), indicando que estos 2 grupos de tratamiento no son lo suficientemente eficaces a pesar de su mayor concentración.

Los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo) son los siguientes: aminoácidos, triterpenos y/o esteroides, catequinas y flavonoides.

La concentración efectiva cicatrizante del extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo) al 10% no obtuvo diferencia significativa en comparación con el control positivo (+). Por lo tanto, esta concentración tiene mayor eficacia en la cicatrización de heridas cortopunzantes en ratones.

VI. RECOMENDACIONES.

Investigar otras actividades relacionadas a los metabolitos primarios y secundarios presentes en el extracto etanólico de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo). Así como también realizar una evaluación histológica y análisis cuantitativos.

Se recomienda, que durante el procedimiento de la actividad cicatrizante por el método Tensiometrico de Vaisberg y col tener mucho cuidado con abrir la lesión y/o herida al insertar las agujas en los bordes de la misma, ya que, lo más mínimo va interferir en la evaluación.

Realizar los estudios y/o ensayos pertinentes para comprobar; que forma farmacéutica tendría mayor eficacia. Además, de incentivar el estudio de otras algas del departamento de Ica.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Castellanos Ramos GI, Alcalá Pérez D. Antioxidantes en dermatología. *DermatologíaCMQ*. 2010 Octubre - Diciembre; 8(4): p. 272-275.
2. Arakaki N., Gil-Kodaka P., Carbajal P., Gamarra A. & Ramírez M.E. I- Rhodophyta. En *Macroalgas de la Costa Central del Perú* (126 p). Lima, Perú: UNALM; 2018
3. Rui-Bo J, Zhao-Rong L, Lianzhu L, Donghui L, Chong C, Mouming Z. The potential mechanisms of *Macrocystis pyrifera* polysaccharides mitigating type 2 diabetes in rats. *Food & Function* [Internet] 2022 [consultado 20 agosto 2023]; 14. Disponible en: <https://doi.org/10.1039/D2FO01083F>
4. Ahmad T, Ishaq M, Karpinić S, Park A, Stringer D, Singh N, Ratanpaul V, Wolfswinkel K, Fitton H, Caruso V, Eri R. Oral *Macrocystis pyrifera* Fucoïdan Administration Exhibits Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties and Improves DSS-Induced Colitis in C57BL/6J Mice. *Pharmaceutics* [Internet] 2022 [consultado 20 ago 2023]; 14(11):1-22. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112383>
5. Lin Kok JM, Dowd G, Cabral J, Wise Time-Dependent Anti-inflammatory Effects of a Lipid Extract from *Macrocystis pyrifera* on Toll-Like Receptor 2 Signaling in Human THP-1 Monocytes. *Planta Med Int Open* [Internet] 2023 [consultado 20 ago 2023]; 9(01):e80-e89. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/a-1729-3654.pdf>
6. Guano G. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) en lesión, inducida en ratones (*Mus musculus*)". Riobamba - Ecuador.
7. Díaz M. Potencial antioxidante y cicatrizante de extractos frescos de *Morus alba*. [Online]; 2017.
8. Gonzales Nieto E. Efecto del consumo del alga parda *Macrocystis pyrifera* sobre el tejido adiposo, hepático y ganancia de peso en crías de ratones con dieta alta en grasas [tesis de pregrado]. Peru: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2022. [citado 4 dic 2022] 75 p. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/18283>
9. Zevallos Escalante ,RV, labajos tananta ,gi. Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* (Capirona de bajo) EN RATONES ALBINOS. <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/728/TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [Online]; 2021.
10. Molina Campos ,SB, Torres Contreras R. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Phoradendron peruvianus* (eichler) "tullma" en ratas holtzman. [Online]; 2020.

11. Arenas Dulce JD. Efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre heridas superficiales en *Mus musculus* var. *albinus*. [Online]; 2018. Disponible en: <http://repositorio.usanpedro.edu.pe/handle/USANPEDRO/9258>.
12. Castro A, Carhuapoma M, Gordillo G, Ramos N, Santamaria O, Alcarraz M, Ruez E, Oliveira G. Biomasa de *Macrocystis pyrifera* (Linnapus) Agardh, composición química, actividad antioxidante, antimicrobiana, antienzimática, fotoprotectora y elaboración de productos dermocosméticos. Científica [Internet] 2016 [consultado 04 dic 2022]; 13(3):175-186. Disponible en: <https://revistas.cientifica.edu.pe/index.php/cientifica/article/view/385>
13. Castro A, Carhuapoma M, Ramos N, Juárez J, Félix L, Jauregui J, López J, Inostroza L, Santa María O, Gutiérrez P, Gonzáles S, Javier A, Escudero J, Navarro A, Huaman S, Machaca M. Efecto fotoprotector de *Macrocystis pyrifera* frente a bloqueadores solares en la prevención de lesiones de pie Ciencia e investigación [Internet].2015 [citado 4 dic 2022];18(2):95-8. Disponible en: <https://doi.org/10.15381/ci.v18i2.13617>
14. Quispe Determinación de la actividad cicatrizante del extracto etanólico de hojas de Wit, Ica; Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica; 2021
15. Trillo Y. Trillo y su tesis “Actividad antimicótica del extracto etanólico de *Senecio nutans* “Chachacoma”. Ica: Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica; 2021
16. Mejía O. Actividad cicatrizante de una crema a base de extracto etanólico seco de *Ceasalpina spinosa* (Molina) Kuntze ratones balb C con cortes inducidos. Tesis. Ica; 2021
17. Quispe Yataco A. Procesamiento de extracción e importancia comercial de las macroalgas (algas pardas) en la zona de San Juan de Marcona - Ica [tesis de pregrado]. Perú: Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, 2020. [citado 07 dic 2022]. 34 p. Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/handle/20.500.13028/3939>
18. Esteva E. El Tratamiento De Las Heridas. Tipos De Apósitos Y Antisépticos. O F F A R M 2006 Vol. 25 Núm. 8 septiembre 54-60
19. Martín-Aragón S. Marcos E. Tratamiento de las cicatrices. Farmacia Profesional. Farmacia Espacio de Salud. Vol. 22, Núm. 6, junio 2008.
20. Castrillón RL, Alejandro Palma RA, Padilla DMC. Interferencia de las biopelículas en el proceso de curación de heridas. Dermatología RevMex 2011; 55(3): 127-139.
21. Sociedad Argentina De Dermatología. Consenso Sobre Cicatrización De Heridas 2008). Acceso 20 de enero 2018, Disponible en <http://www.sad.org.ar/wp-content/uploads/2016/04/cicatrizacion.pdf>.
22. Valencia CB. Cicatrización: Proceso de Reparación Tisular. Aproximaciones Terapéuticas. Investigaciones Andina N° 20 Vol. 12 (85-98). Acceso 20 de enero 2018, Disponible en www.scielo.org.co/pdf/inan/v12n20/v12n20a08.pdf.

23. Guillermo F, Bonilla P, Arroyo. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellaefolia* R. et P. en geles aplicados a *Ratus norvegicus*; 2005
24. Tenorio Rodriguez PA. Compuestos polifenólicos de macroalgas marinas: actividad antioxidante, antiinflamatoria y antibacteriana. [Tesis Doctoral]. La Paz : Centro de Investigacion Biologicas del Noroeste S.C; 2018.
25. Forner LG, Cejalvo Lapeña. Anestesia en el Animal de Laboratorio. Parte 2. In.; 1990. p. 38 - 42.
26. Paredes Fuentes FdM, Mendoza Yanavilca RA, Rosales Fernandez AL, Cisneros Tarmeño R. Guia de manejo y cuidado de animales de laboratorio : ratón. In Guia de manejo y cuidado de animales de laboratorio : ratón. Lima; 2008. p. 19-21.
27. Crisóstomo Bnhq, Paucar Bzjb. Actividad cicatrizante y toxicidad dérmica de extracto etanólico de los tubérculos de *Ullucus tuberosus* caldas “olluco” en animales de experimentación. lima: universidad Wiener, Facultad De Farmacia Y Bioquímica; 2018.
28. Prado Huamaní, Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana* "cabuya". Ayacucho 2013; 2015
29. Estrella Perdomo, Javier Soldevilla, Francisco Pedro, Relación entre calidad de vida y proceso de cicatrización en heridas crónicas complicadas, 2020
30. Ayarza Leon JL. Extracción y caracterización de alginato de sodio procedente del alga parda *Macrocystis* sp. Lima: Pontificia Universidad Católica Del Perú, Lima; 2015.
31. Mora Castro NA. Evaluacion de *Macrocystis piryfera* como complemento alimenticio de ganado caprino. Tesis. La paz: Centro Politecnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencia Marinas; 2006.
32. Ortiz J. Composición Nutricional y Funcional de Algas Pardas Chilenas : *Macrocystis piryfira* y *Durvillaea antarctica*. Chile: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Farmaceuticas; 2011.

VIII. ANEXOS.

Anexo 1

Certificado de Bioterio del Instituto Nacional de Salud. Distrito de Chorrillos – Lima

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO			
CERTIFICADO SANITARIO Nº		114 - 2023	
Producto	: Ratón albino	Lote Nº	: M-16-2023
Especie	: <i>Mus. musculus</i>	Cantidad	: 40
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 25 a 32 días
Peso	: 15 a 24 g.	Sexo	: hembras
Guía de remisión	: 036211	Destino	: Euribe Ortiz, Valeria
Chorrillos	: 10 - 05 - 2023		Ica
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias * .</p> <p>*Referencia : P.R.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p>			
Chorrillos, 10 de mayo del 2023 (Fecha de emisión del certificado)			
NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.		 M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586	

Fuente: Instituto Nacional de Salud

Anexo 2

Constancia de Taxonomía de *Macrocystis pyrifera* (L) (sargazo)



Fuente: Facultad de Ciencias Biológicas de la UNICA

Anexo 3

Prueba de solubilidad

1. PRUEBA DE SOLUBILIDAD. - Vehículo

- a. Suero NaCl: Baja
- b. Alcohol 60%: Soluble en etanol ←
- c. Agua destilada: Muy baja

2. EXTRACTO. - Tintura

Mezcla de reflujo seco y filtrado seco (solute), etanol 60% (solvente)

2.A. Niveles de concentración:

2.A.I: 10g X 100mL

2.A. II: 30g X 100mL

2.A.III: 60g X 100mL

3. ALMACENAMIENTO. -

- a. Frascos de tapa gotero, vidrio ambar (fotoprotector). 3 unidades un frasco por cada nivel de concentración.

Fuente: Propia

Anexo 4

Prueba preliminar de anestesia

ANESTESIA. -

- Pentobarbital 6.5g (1mL)
- Vehículo agua destilada (9mL)

VÍA DE ADMINISTRACIÓN. -

Intraperitoneal

PRELIMINAR. - 12:23 PM

- *Ratón 1*: 33.8 → 70 pento/0.36
= 3; 1:40hrs
 - *Ratón 2*: 33.6 → 70 pento/0.36
Despierto casi inmóvil; 1:40 hrs
 - *Ratón 3*: 26.8 → 60pento/0.24
No hizo efecto, 1 hora 40 mins ya está despierta
 - *Ratón 4*: 32.1 → 70 pento/0.34
Despierto inmóvil, 1:40 hrs
 - *Ratón 5*: 29.4 → 70 pento/0.31
Despierto, casi inmóvil, 1:40hrs
Dosis exacta de pentobarbital, no se redondeo
1. 30mins → 12:53pm
 2. 40mins → 01:13pm

Salió una mínima gota al aplicar la anestesia general

Fuente: Propia

Anexo 5

Prueba anestésica y otras anotaciones

- Fracción homogénea de la incisión, es decir tiene que ser recto el corte para que cuando se aplique tensión, esta sea pareja
- Corte a la altura escapular
- Prueba anestésica:
Nota: "roja", al estar en seguimiento se mostró como un ratón con espectro sobre lo normal de ansiedad. Se desconoce causa de muerte

● Ratón 1: 12:23hrs /30.4g/80
Acción quirúrgica: 20mins
MURIÓ

● Ratón 2: 13:17hrs/28.5g/95
Acción quirúrgica: 13:30 mins

● Ratón 3: 13:01 hrs /29.5g/80
Acción quirúrgica: 30mins

● Ratón 4: 12:24 hrs/33.5g/90
Acción quirúrgica 13:47

● Ratón 5: 12:25hrs/35.g/95
Acción quirúrgica: 15mins

● Ratón 6: 12:30hrs/33.4g/85
Acción quirúrgica: 20mins

Ratón – anestesia – pentobarbital + suero

1mL ----- 2500mg

X ----- Peso ratón


Fuente: Propia

Anexo 6


Recuperación de ratones

RECUPERACIÓN


Se observa que mantener estable y regulada la temperatura del ratón, ayuda a su recuperación. Se debe cuidar que no se asfixie al estar inmobilizado.

 14:45 hrs ----- Empezó a caminar con tambaleos


MORADO
07:30hrs
Signos vitales estables
Temperatura normal
Color de ojos normales

 15:18 hrs ----- Empezó a caminar con tambaleos


CELESTE
07:30hrs
Temperatura ligeramente baja
Color de ojos normales

 15:32 hrs ----- Poco movimientos, mínimos

NEGRO
07:30hrs
Temperatura normal
Color de ojos normales
Respiración dificultosa

 16:30 hrs ----- Poco o mínimo movimiento (17:23 movilidad completamente)

VERDE
07:30hrs
Temperatura muy baja (pese a estar abrigado con cobertor polar)
Color de ojos normales

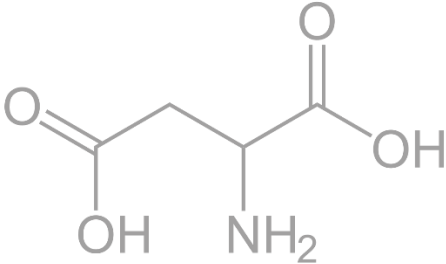
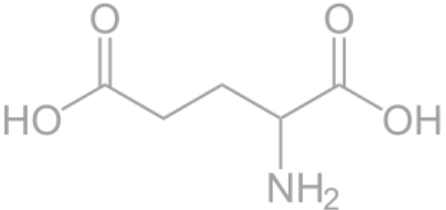
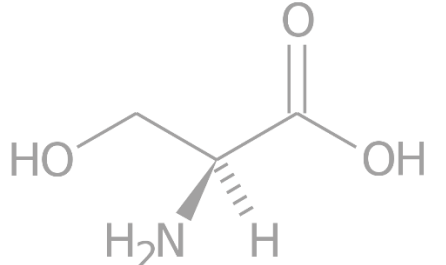
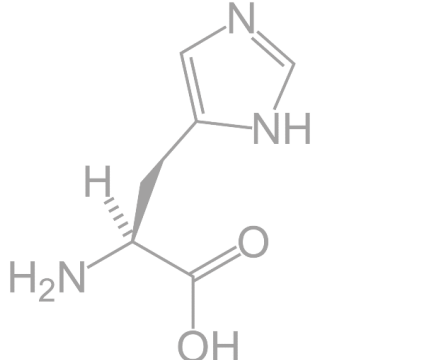
 18:15 hrs ----- Empezó a moverse pero con tambaleo, poco o mínimo equilibrio, poco movimiento

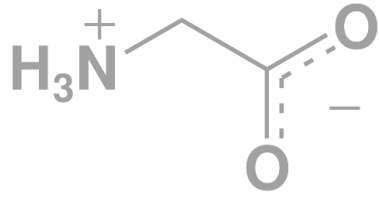
azul
07:50hrs
Temperatura baja a normal
Color de ojos normales
Respiración dificultosa

Fuente: Propia .

Anexo 7

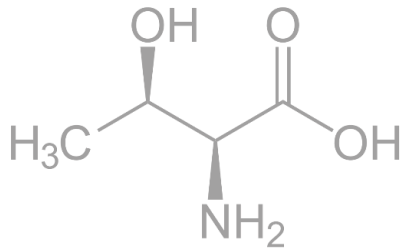
Composición Nutricional y Funcional de Algas Pardas Chilenas: *Macrocystis pyrifera* y *Durvillaea antarctica*

AMINOACIDOS (mg 100g b.s.)	<i>Macrocystis pyrifera</i> (sargazo)
	Ac. Aspártico 1338.8 , 22.8
	Ac. Glutámico 1827.3 , 15.4
	Serina 830.9 , 9.6
	Histidina 161.9 , 6.1



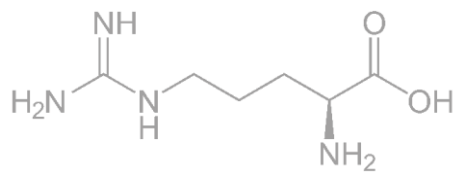
Glicina

664.9 , 8.7



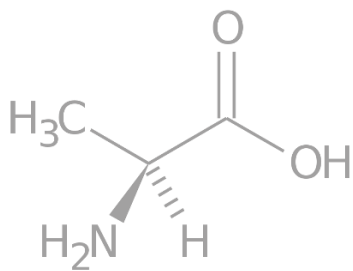
Treonina

735.4 , 6.9



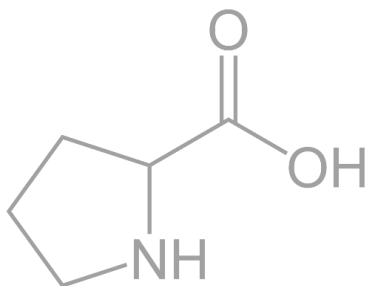
Arginina

944.7 , 10.1



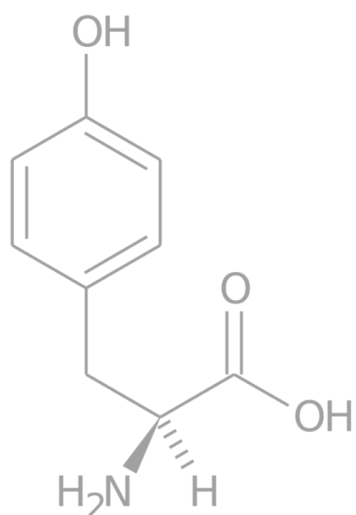
Alanina

643.8 , 13.7



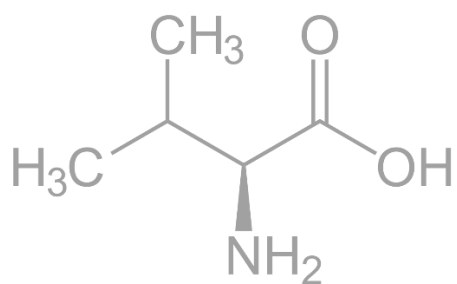
Prolina

0.8 , 0.1



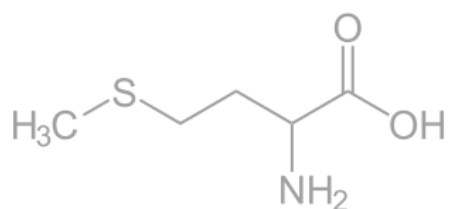
Tirosina

425.9 , 9.4



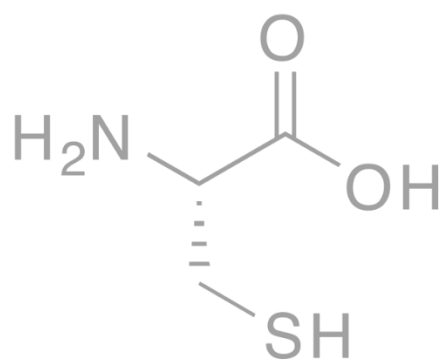
Valina

1140.2 , 12.5



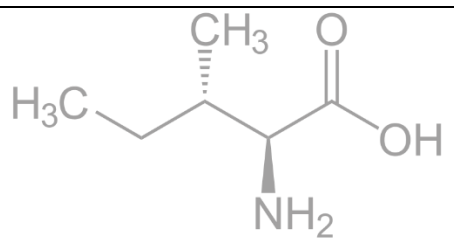
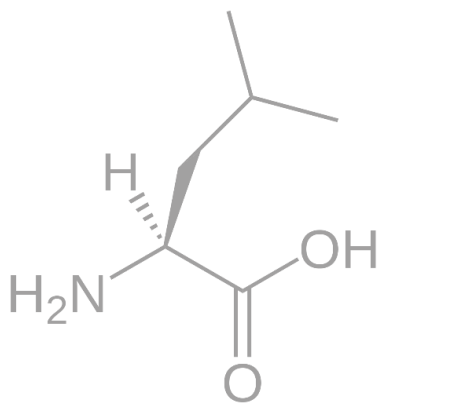
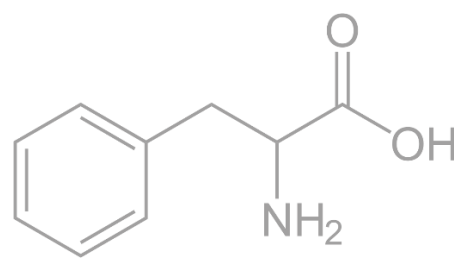
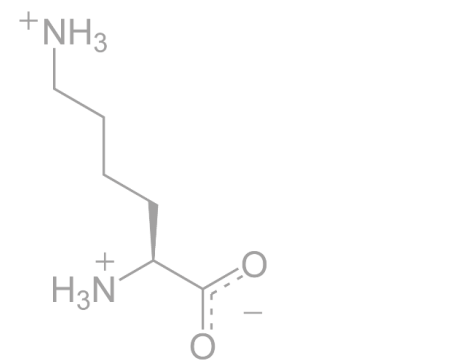
Metionina

1111.6 , 10.8



Cistina

228.1 , 8.3

	Isoleucina	507.0 , 9.7
	Leucina	339.4 , 13.0
	Fenilalanina	589.5 , 6.7
	Lisina	321.3 , 9.2
TOTAL AMINOACIDOS		
ESENCIALES		5134.4 , 83.2

Fuente: Jaime Ortiz V. MSc. Composición Nutricional y Funcional de Algas Pardas Chilenas: *Macrocystis pyrifera* y *Durvillaea antarctica*. Chile: Universidad de Chile; 2011 (32).