

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**



**Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico
de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba
santa". Ayacucho - 2013**

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

**PRESENTADO POR
Bach. HUAMÁN LOPE, MAGNA**

**AYACUCHO – PERÚ
2013**

ACTA SE SUSTENTACIÓN DE TESIS
R.D.N.120-13- UNSCH-FCB-D
Bach. Magna Huamán Lope

En la ciudad de Ayacucho a los veinte días del mes de agosto del año dos mil trece, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, siendo las seis de la tarde, los miembros del Jurado Calificador, bajo la residencia del Dr. Segundo Tomás Castro Carranza e integrada por los siguientes miembros docentes: Mg. José Manuel Díez Macavilca, Mg. Edgar Cárdenas Landeo, Mg. Marco Rolando Aronés Jara, Mg. Saturnino Martín Tenorio Bautista y actuando como secretaria docente Biga. Rosa Cortez Saavedra para recepcionar la sustentación de la tesis titulada: "actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *cestrum auriculatum* L. Herit. "hierba santa". Ayacucho - 2013, presentado por la bachiller en Farmacia y Bioquímica Srta. Magna Huamán Lope, quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutica.

Como primer acto el Sr presidente del jurado calificador dió instrucciones a la Srta. Sustentante para su exposición la que no debe extenderse de cuarenta y cinco minutos. Culminada la exposición el sr. Presidente solicitó la participación de los miembros del Jurado Calificador, para realizar sus observaciones, preguntas o aclaraciones que crean conveniente para realizar la calificación correspondiente. Los miembros del Jurado Calificador participaron en el siguiente orden: Mg. Martín Tenorio Bautista, Mg. Edgar Cárdenas Landeo, Mg. José Manuel Díez Macavilca, Dr. Segundo Tomás Castro Carranza y finalmente el Mg. Marco Aronés Jara. Culminada la fase de participación de los miembros del Jurado Calificador, el Presidente de la misma, invitó a la Srta. Sustentante y al público asistente a abandonar el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, para que el Jurado Calificador pueda deliberar y realizar la calificación en privado. Obteniéndose la siguiente calificación.

JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	RTA A PREGUNTAS	PROMEDIO
Mg. José Manuel Díez Macavilca.	16	16	16
Mg. Edgar Cárdenas Landeo.	16	16	16
Mg. Marco Aronés Jara.	17	17	17
Mg. Martín Tenorio Bautista.	15	13	14
		PROMEDIO:	16

De la evaluación realizada por los miembros del Jurado Calificador, la Srta. Sustentante obtuvo la nota promedio de DIECISEIS (16), de la cual dan Fé, estampando la firma al pie del acta. Culminó el acto de sustentación las siete y cuarenta minutos de la noche.



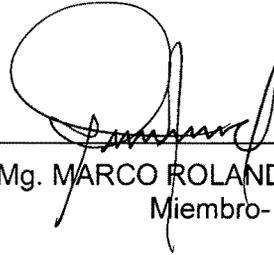
Dr. SEGUNDO TOMÁS CASTRO CARRANZA
Presidente



Mg. JOSÉ MANUEL DÍEZ MACAVILCA
Miembro



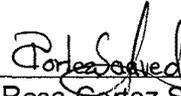
Mg. EDGAR CÁRDENAS LANDEO
Miembro



Mg. MARCO ROLANDO ARONÉS JARA
Miembro- Asesor



Mg. Saturnino Martín Tenorio Bautista
Miembro



Biga. Rosa Cortez Saavedra
Secretaria Docente

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; por brindarme una formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, a todos los docentes quienes contribuyeron con mi formación profesional.

A mi asesor Mg. Marco Aronés Jara por su constante colaboración y apoyo profesional.

A todas las personas quienes de una u otra forma contribuyeron con la ejecución del presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
NDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa"	5
2.3. Herida	11
2.4. Cicatrización	11
2.4.1. Fisiología de la cicatrización	11
2.4.2. Respuesta inmediata a la lesión	12
2.4.3. Tipos de cicatrización	14
2.4.4. La cicatriz	14
III. MATERIALES Y METODOS	16
3.1. Lugar de ejecución	16
3.2. Definición de la población y muestra	16
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	17
3.3.1. Recolección e identificación de la muestra	17
3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico	17
3.3.3. Identificación de metabolitos secundarios	18
3.4. Determinación de la actividad cicatrizante	18
3.5. Diseño experimental	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	29
VII. RECOMENDACIONES	30
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	34

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa".	22

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides	8
Figura 2.	Estructura química de un tanino	9
Figura 3.	Volumen de tensión (ml) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa" en diferentes tratamientos	23
Figura 4.	Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa" en diferentes tratamientos.	24

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación de <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa".	35
Anexo 2. Procedimiento metodológico de la especie <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit	36
Anexo 3. <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa"	37
Anexo 4. Preparación del extracto hidroalcohólico	38
Anexo 5. Recipiente conteniendo el extracto hidroalcohólico	39
Anexo 6. Tamizaje fitoquímico	40
Anexo 7. Tubos de prueba con metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico	41
Anexo 8. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico	42
Anexo 9. Equipo del volumen de tensión (ml)	43
Anexo 10. Análisis de varianza de los volúmenes de tensión (ml)	44
Anexo 11. Prueba Tukey de los promedios del volumen tensión (ml)	45
Anexo 12. Matriz de consistencia	46

RESUMEN

La cicatrización de las heridas conlleva un conjunto de procesos biológicos y celulares que se produce como respuesta de los tejidos a una lesión y tiene como finalidad, obtener la recuperación funcional de los mismos. El presente trabajo de investigación básico experimental se realizó con el objetivo de evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", durante los meses de setiembre del 2012 hasta febrero del 2013, en los laboratorios del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. La muestra fue recolectada en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho (altitud 3 276 m.s.n.m). Obteniendo el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", se realizó el tamizaje fitoquímico, los cuales fueron: Flavonoides, lactonas y cumarinas, triterpenos y esteroides, fenoles y taninos, saponinas, alcaloides. Para determinar la actividad cicatrizante se utilizó el método tensiométrico y corroborado con cortes longitudinales en el lomo del ratón para observar la evaluación en cada caso. Se utilizó 30 ratones *Mus musculus* albinos machos de 25 a 35 g de peso, los cuales fueron divididos en cinco tratamientos: base (blanco), Dermaclín Plus® (estándar) y la concentración del extracto hidroalcohólico de hojas al 1,0 %, 2,5 % y 5,0 % respectivamente, obteniéndose los volúmenes de tensión como indicador de la cicatrización y se calculó el porcentaje de actividad cicatrizante. Los volúmenes promedio de tensión al 1,0 %; 2,5 % y 5,0 % del extracto hidroalcohólico fueron: 53,5 ml; 62,0 ml y 74,0 ml respectivamente, se observó que al 5 % tuvo mayor volumen de tensión con respecto al blanco y al estándar, con un 103 % de actividad cicatrizante. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", posee actividad cicatrizante de una forma dosis dependiente.

Palabra clave: Actividad cicatrizante, *Cestrum auriculatum* L. Herit

I. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional es utilizada ampliamente desde tiempos ancestrales en nuestra región, el conocimiento sobre la salud, enfermedad, prevención y tratamiento ha sido transmitido de una generación a otra, a través del tiempo esto se basa exclusivamente en la experiencia y observación.¹

Hoy en día, la ciencia moderna estudia los efectos terapéuticos de las plantas medicinales y van precisando, comparando y clasificando las diversas propiedades para el tratamiento de las enfermedades que afectan a la población.²

La piel es el órgano más grande del cuerpo, sin la cual la vida es imposible, combinado con sus estructuras accesorias como pelos, glándulas, etc., ocupa el 20 % del peso del cuerpo. Su principal función es protegerlo del ambiente ya que constituye una barrera protectora contra microorganismos, rayos UV, pérdida de fluidos, estrés de fuerzas mecánicas y al mismo tiempo sirve como principal órgano sensitivo o de comunicación hacia el exterior, ya que recoge información a través de una extensa red de neuronas y terminales nerviosas que aportan información sobre la presión, vibración, dolor y temperatura; con ello los peligros externos se detectan y pueden emprenderse acciones para evitarlos y minimizarlos.³

La herida es una solución de continuidad de la piel, con o sin pérdida de sustancia, que puede comprometer otros tejidos u órganos subyacentes. Sus causas son diversas según su carácter agudo o crónico.⁴

La cicatrización de las heridas conlleva un conjunto de procesos biológicos y celulares que se produce como respuesta de los tejidos a una lesión y tiene como finalidad obtener la recuperación funcional de los mismos.⁵

La naturaleza atribuye propiedades farmacológicas sorprendentes al *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa” como antipirético, antioxidante, diurético, anti espasmódico y cicatrizante.⁶

La finalidad de este trabajo es contribuir al amplio e inagotable campo de la investigación científica de una planta no tan conocida al precisar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa” para lo cual se planteó los siguientes objetivos.

Objetivo general

Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa”.

Objetivos específicos

- Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa”.
- Determinar la dosis que tiene mayor actividad cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa”.
- Comparar el porcentaje de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa” con un estándar “Dermaclín Plus®”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Aguado⁷ realizó estudios de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", donde demostró su actividad antimicrobiana y antiinflamatoria. Santillan⁸ realizó estudio sobre: tamizaje fitoquímico y su actividad antipirética del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* "hierba santa"; los metabolitos secundarios encontrados son flavonoides, taninos y/o fenoles, alcaloides, lactonas y/o cumarinas, triterpenos y/o esteroides, saponinas y una buena actividad antipirética, a una dosis de 250 mg/kg (50 %) en comparación al metamizol (60 %) y a los tratamientos de 100 mg/kg (20 %) y 500 mg/kg (40 %). Ylesca⁹ evaluó el efecto sinérgico de los extractos etanólicos de las hojas de *Borago officinales* "borraja" y el *Cestrum auriculatum* "hierba santa" en el tratamiento de la piresis en conejo, donde demostró que los principios activos de la "borraja" y "hierba santa" tiene un efecto antipirético moderado, pero cuando están mezclados, muestra un efecto antipirético mucho más marcado que cuando se le estudia por separado. Determinan que ambas plantas presentan metabolitos secundarios en común como: triterpenos y/o esteroides, flavonoides, fenoles y/o taninos, que pueden tener estructura química o algún radical en sus estructuras moleculares lo que estaría potenciando el efecto antipirético. Buznego y Pérez¹⁰ evaluaron la actividad antimicrobiana de 36 extractos etanólicos obtenidos de 24 plantas,

todas ellas utilizadas en la medicina tradicional en el tratamiento de infecciones severas y en desórdenes antiinflamatorios, utilizando el método de difusión en agar para cuatro bacterias (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*) y cuatro hongos (*Cándida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum*, *Sporotrix schenckii*), donde se encontró que la mayor actividad está en las especies de *Cestrum auriculatum* L. Herit. También realizaron investigaciones del género *Cestrum* (*Cestrum nocturnum*) "galán de noche" sobre los diferentes modelos de epilepsia experimental, han utilizado las decocciones de hojas secas cuyos resultados presentan actividad antiepiléptica en el modelo de las convulsiones inducidas por isoniazida a diferencia del diazepam el cual bloqueó totalmente las convulsiones en los tres modelos conductuales. En nuestra universidad se han venido desarrollando diversos trabajos de las actividades cicatrizantes utilizando el test de Howes, Curo¹¹ estudió la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* "yawar soqo" y encontró que la concentración de 500 mg/kg de peso es la que tiene mayor actividad cicatrizante (86,63 %), con respecto a las demás concentraciones. Quispe¹² demostró la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Junglia paniculata* (DC) A. Gray "matico de puna" en ratones albinos distribuidos aleatoriamente, concluyendo que el extracto hidroalcohólico de hojas al 5 % de matico de puna, tiene actividad cicatrizante significativamente superior al Dermaclín Plus®.¹² Por otro lado Guillermo y Arroyo¹³ investigaron el efecto cicatrizante, en ratones albinos del extracto vegetal de *Pepermiás scutellaefolia* "munyo munyo", llegando a la conclusión , que el extracto al 5 % tiene mayor efecto que el estándar cicatrín. Arroyo, Pareja y Raez¹⁴ han comprobado que las hojas de *Piper angustifolium* R & P (matico), bajo la forma de extracto acuoso y alcohólico tienen eficacia farmacológica

como cicatrizante y finalizan indicando que *Piper angustifolium* R & P (matico) tiene mayor actividad que el cicatrín.

2.2. *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa”

2.2.1. Clasificación taxonómica

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: SOLANALES
FAMILIA	: SOLANACEAE
GENERO	: <i>Cestrum</i>
ESPECIE	: <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit
Nombre vulgar	: “hierba santa”

Fuente: Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 1).

2.2.2. Familia Solanaceae

La familia solanaceae es una de las más ricas en especies en la flora peruana, siendo reconocida con alrededor de 42 géneros y 600 especies, principalmente hierbas y arbustos reconocieron 208 especies y seis variedades como endémico, en 16 géneros. Indican que esta familia ocupa el sexto lugar por su diversidad en especies endémicas, siendo *Solanum*, *Nolana* y *Jaltomata* los géneros más ricos en especies. Los taxones endémicos se encuentran en la mayoría de las regiones, principalmente en meso andina, desierto semicálido tropical y bosques muy húmedos montanos, desde el nivel del mar hasta los 3 800 m.s.n.m. Treinta y seis taxones se encuentran representados dentro del Sistema Nacional de Areas Naturales Protegidos por el Estado.¹⁵

2.2.3. *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa”

Es una planta arbustiva de unos 2,50 - 3 metros de alto, tallos ramificados desde la base, las hojas simples, alternas pecioladas, generalmente con presencia de aurículas en la base del peciolo, oblongo lanceolada de borde entero y ápice agudo, glabrescente en ambas caras. Inflorescencia en panículas terminales o axilares, flores con cortamente pedunculadas, heteroclamídeas, pentámeras y bisexuales; cáliz formado por cinco sépalos soldados en la base y dentados en el ápice, corola tubular formado por cinco pétalos de color verde – amarillo con cinco lóbulos en el ápice, cinco estambres libres y ovario súpero, bicarpelar y multiseminados; fruto baya de forma ovoide verde cuando están inmaduros, tornándose de un color azul oscuro al madurar.¹⁶

2.2.4. Distribución y hábitat

Las solanáceas tienen una amplia distribución en el territorio peruano, existen algunas tendencias claras de distribución y hábitat en algunos géneros. Son propios de la zona alto andina y valles interandinos, se encuentran asociados a los bosques y quebradas. Muchas solanáceas se encuentran presentes en ambientes perturbados y sujetos a la amenaza, por la presencia de especies exóticas invasoras más agresivas. *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa”, crece en tierras bajas de los valles interandinos de climas templadas, entre los 200 y 3 500 m.s.n.m., formando generalmente la vegetación monte ribereño también se encuentra en bordes de terrenos de cultivo. Ampliamente distribuidos en Perú y Brasil.⁶

2.2.5. Usos medicinales

La familia Solanaceae es usada principalmente para enfermedades dermatológicas, afecciones gastrointestinales y esqueleto musculares. La literatura científica indica actividad biológica como antibiótico, antiinflamatorio,

hepatoprotector, hipoglicemiante. La mayor parte de las especies de este grupo aún no tienen estudios realizados.¹⁷

El cocimiento de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa"; se emplea como febrífugo y las hojas aplicadas exteriormente como desinflamante en edemas, hemorroides, cicatrizantes, antibacterianas y antifúngicos.⁶

2.2.6. Composición química

A los principios del metabolismo secundario se les considera como no esenciales para la vida, aunque puedan ser fundamentales para que pueda operar una determinada función biológica. Son sin duda alguna, los compuestos de mayor interés farmacológico, los que van a construir los llamados "principios activos" de la droga.¹⁸

Los metabolitos secundarios encontrados en las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" son: alcaloides, lactonas, cumarinas, triterpenos y/o esteroides, taninos y/o fenoles, flavonoides, saponinas y mucilagos.⁸

a) Fenoles y compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se refieren a un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, y que ocurren frecuentemente como glucósidos, combinado con unidades de azúcar. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua.¹⁹

Las estructuras fenólicas son metabolitos secundarios que pueden proceder de la ruta del ácido shikímico o de la ruta del acetato. Proceden de la ruta del ácido shikímico: fenoles sencillos, ácidos fenólicos (benzoicos, cinámicos, etc.), cumarinas, lignanos, flavonoides, antocianinas y taninos, proceden de la ruta de los acetatos o ruta del ácido mevalónico, los siguientes derivados fenólicos y heterósidos antracénicos. Los fenoles sencillos son poco frecuente y actúan como: coleréticos, colagogos, hepatoprotectores, diuréticos aperitivos,

antiinflamatorios, antipiréticos, astringentes, anti radicales libres, antirreumáticos, etc.²⁰

b) Flavonoides

Las plantas superiores sintetizan una amplia variedad de compuestos fenólicos durante su crecimiento y desarrollo, entre ellos, los flavonoides. Estos compuestos, productos de la ruta biosintética del ácido fenilpropanoico, intervienen en los vegetales en la formación de pigmentos (contribuyendo a la coloración de frutos, flores y hojas), en la protección frente a la radiación ultravioleta, en la defensa durante la interacción planta - patógeno y, posiblemente, modificando la acción de distintas hormonas vegetales (auxinas y citoquinas).¹⁸

Los flavonoides y los compuestos relacionados (antocianinas, catequinas y leuco antocianidinas) proceden del metabolismo secundario de los vegetales a través de la ruta del ácido shikímico y de la ruta de los policéticos. El uso de las plantas con flavonoides poseen acciones farmacológicas muy variadas como aquellas que son protectores de la pared vascular o capilar, o a veces como antiinflamatorios, anti radicales libres, antiespasmódicos, antibacterianos, antihemorrágico, hepatotóxico, diuréticos y anti fúngicos.²⁰

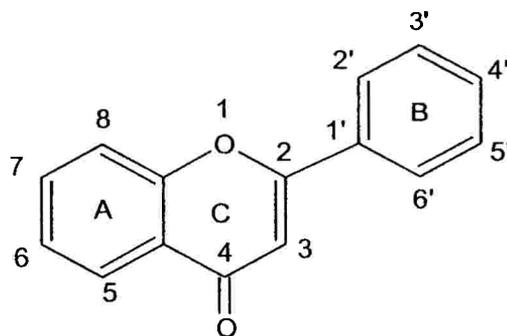


Figura 1. 2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides.¹⁹

c) Taninos

Son compuestos fenólicos hidrosolubles que tienen un peso molecular comprendido entre 500 y 3 000, que presentan, junto a las reacciones clásicas

de los fenoles, la propiedad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas. Encontramos dos tipos de taninos.²⁰

- Taninos hidrosolubles: tiene precipitado azul.
- Taninos condensados: tiene precipitado verde intenso.

Las aplicaciones de las drogas con taninos son limitadas y derivan de sus propiedades astringentes: por vía interna ejercen un efecto antidiarréico y antiséptico, por vía externa impermeabilizan las capas externas de la piel y mucosas, protegiendo así las capas subyacentes; a esto hay que añadir un efecto vasoconstrictor sobre los pequeños vasos superficiales. Al precipitar las proteínas, los taninos originan un efecto antimicrobiano, anti fúngico y cicatrizante.²¹ La acción protectora e inhibitoria de las secreciones y exudaciones hace útiles a los taninos en la curación de heridas, se absorbe por la piel, se aprovecha en lesiones de procesos cutáneos, tales como ulceraciones, escaras, grietas cutáneas y por la acción astringente la piel lesionada queda retraída.²²

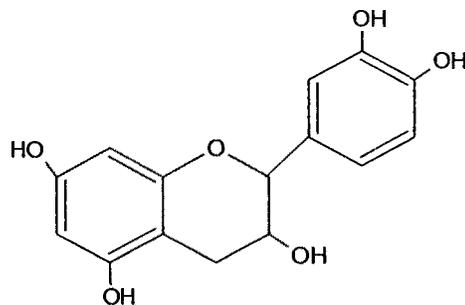


Figura 2. Estructura química de un tanino.²¹

d) Alcaloides

Los alcaloides son sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico y mayoritariamente de origen vegetal. Tienen una estructura generalmente compleja y ejercen acciones fisiológicas diversas incluso a dosis muy bajas. Son tóxicos y capaces de precipitar con ciertos reactivos característicos, sin embargo, determinadas sustancias que se consideran alcaloides y no cumplen las características generales de los alcaloides. En los vegetales los alcaloides

proceden del metabolismo secundario y se forman generalmente a partir de los aminoácidos. La excepción son los alcaloides esteroídicos (ácido mevalónico) y las bases xánticas (metabolismo de las purinas).²¹

e) Triterpenoides y esteroides

Los triterpenos y esteroides son sustancias ubicuas en el reino vegetal y comparten mucho de su estructura química, ya que provienen de la misma ruta biosintética. Bajo el nombre de triterpenos se conoce aquellos compuestos de 30 átomos de carbono producido por ciclación de escualeno. Sus rasgos estructurales y funcionales son semejantes a los de los terpenos más elementales, presentando un esqueleto policíclico formado por condensación de 6 unidades de isopreno activo con bajo grado de insaturación. Se ha de señalar que también existen triterpenos lineales. Los esteroides, en particular los fitosteroles pueden considerarse como un tipo especial de triterpenoides con un esqueleto ciclo - pentano - perhidrofenantreno dotado de una cadena alquílica en C-17, dos metilos en C-10 y C-13, y que carecen de las sustituciones en 4 (*gem* - demetil) y 14 (metil) características de los triterpenos en general.¹⁸

El término terpenoide se refiere a un grupo de sustancias que tienen un origen biosintético común y que siguen la llamada "regla del isopreno".¹⁹

f) Saponinas

Las saponinas son heterósidos (azúcar más aglicón) que se caracterizan por su capacidad para producir espuma cuando se agita una solución acuosa que las contiene. Se forma espuma debido a que las saponinas disminuyen la tensión superficial del agua. Son por lo tanto tensioactivos naturales. Las drogas con saponinas pueden presentar diferentes aplicaciones farmacológicas de diferentes especies; a nivel pulmonar producen un aumento de las secreciones y por consiguiente tienen un efecto expectorante y antitusivo; a nivel aumenta la circulación sanguínea aumentando consecuentemente la filtración glomerular y

surtiendo un efecto diurético así mismo efecto anti edematoso, antiinflamatorio, hemorroidal, cicatrizante, antimicrobiano, antivírico y antimicótico. En la industria farmacéutica se emplean como agentes espumantes y emulgentes.²¹

2.3. Herida

La herida es una pérdida de la integridad de los tejidos blandos producida por agentes externos como un cuchillo o por agentes internos como un hueso fracturado.²³

Una herida es la consecuencia de una agresión, que da como resultado una solución de continuidad en los tejidos, cuando dicha lesión es de curso agudo, constituye una ulceración; si se extiende más de tres semanas se denomina úlcera; al complejo proceso destinado a reparar los tejidos dañados se le conoce como cicatrización. En todas las heridas hay una alteración metabólica continua que dura semanas, meses o incluso años.²⁴

2.4. Cicatrización

Es un proceso complejo pero sistémico, muchos tipos de células están involucrados en el proceso de cicatrización como plaquetas, macrófagos, fibroblastos, donde las plaquetas son los primeros componentes celulares que invaden la lesión, tiene como finalidad obtener la recuperación funcional de los mismos.²⁵

2.4.1 Fisiología de la cicatrización

La cicatrización es un proceso dinámico, interactivo en el cual participan mediadores solubles extracelulares, células sanguíneas, células de la matriz tisular, y del parénquima, para facilitar el estudio y comprensión del proceso de reparación de las heridas, se le ha dividido en fases, las cuales ocurren de manera secuencial: hemostasia, inflamatoria proliferativa o de granulación, de epitelización y de remodelación.²⁶

2.4.2. Respuesta inmediata a la lesión

a) Hemostasia

Con la hemorragia se activan las plaquetas por la trombina y fibrillas de colágeno expuestas por la injuria. Estas liberan mediadores para la formación de coagulo, y factores de crecimiento (FC) llamados pdgf (factor de crecimiento derivado de las plaquetas), que atraen fibroblastos. Se forma una matriz provisoria de fibrina y fibronectina para deslizamiento de fibroblastos, monocitos y vasos.⁴

b) Inflamatoria

Heridas suturadas dura cuatro a cinco días y en abiertas siete a diez días o más, si hay infección. Aparece edema, eritema y exudación, por la llegada de células inflamatorias.⁴

e) Granulación y epitelización

Ésta etapa se completa en tres a diez días, y consta de cuatro procesos: Angiogénesis, fibroplasia, contracción y epitelización. En las Angiogénesis, células endoteliales, macrófagos y fibroblastos, liberan factores antigénicos y Fc, estimulados por la hipoxia y aumento de acido láctico. La fibroplasia se inicia al tercer día con fabricación de matriz dérmica (colágeno, elastina, proteoglicanos) por los fibroblastos. La contracción de heridas profundas es la disminución de su tamaño (40 %) por acción de miofibroblastos.

La epitelización es la restauración de la epidermis que se inicia a partir de los queratinocitos de los bordes o anexos.⁴

d) Neo vascularización

El fenómeno de formación de vasos nuevos es crucial para la reparación de la herida. Estos vasos constituyen la red vascular previa dañada y llevan oxígeno y nutrientes a la herida en proceso de cicatrización. La neo vascularización es evidente hacia el tercer día y más activa hacia el séptimo día, lo que explica el aspecto notablemente eritematoso de la herida en el momento de retirada de la

sutura. La vascularización disminuye con rapidez hacia el día 21, con una agresión continua conforme madura la herida, los vasos nuevos forman asas de capilares rodeados por fibroblastos en proceso activo de crecimiento. Estos dos elementos de la superficie de la herida son responsables del aspecto clásico denominado granulación. El tejido de granulación se ve con más frecuencia en las heridas abiertas que cicatrizan por segunda intención.⁴

e) Síntesis de colágeno

Con la recuperación del suministro de sangre y la estimulación por los macrófagos, los fibroblastos entran rápidamente en mitosis. Comienzan a producir nuevas fibrillas de colágeno hacia el día dos. La síntesis máxima se produce entre el día cinco y siete, y la herida presenta mayor masa de colágeno hacia tres semanas. Para entonces, la herida carece de infiltrado inflamatorio y edema. El colágeno nuevo se deposita con un patrón aleatorio y amorfo, es un gel con escasa resistencia a la tracción sin embargo, en unos meses éste gel continua remodelándose así mismo, adaptando un patrón organizado en cesta trenzada que se consigue por entrecruzamiento de las fibras de colágeno para que esto ocurra sin un exceso de colágeno, se produce una lisis de colágeno. La hidrólisis y la actividad colagenasa descomponen el colágeno viejo y dañado, permitiendo su ingestión por los macrófagos, reemplazado por colágeno nuevo. El equilibrio entre síntesis y lisis abarca un periodo vulnerable entre los días siete y diez tras la lesión, en que la herida es más propensa a la dehiscencia. La herida tiene solo el 5 % de su resistencia a la fracción original a las dos semanas y el 35 % en un mes después. La resistencia a la fracción definitiva no se alcanza hasta pasado varios meses.⁴

2.4.3 Tipos de cicatrización

Existen tres maneras de cicatrización según el periodo y en la forma en esta ocurra.

- **Cicatrización primaria o por primera intención**

Es ideal para cualquier cirujano, los tejidos cicatrizan por unión primaria, cumpliendo así las siguientes características: mínimo edema, sin secreción local, en un tiempo breve, sin reparación de los bordes de la herida y con mínima formación de cicatriz.²⁷

- **Cicatrización secundaria o por segunda intención**

Cuando la herida no se afronta por falta de una atención oportuna o por indicación médica (heridas muy sucias), se lleva a cabo un proceso de cicatrización más prolongado y más complicado. La herida cicatriza desde las capas profundas y desde sus bordes. Habitualmente se forma tejido de granulación que contiene miofibroblastos y la herida cierra por contracción. El proceso de cicatrización es lento y generalmente deja una cicatriz inestética.²⁷

- **Cicatrización terciaria o por tercera intención**

Este es un método seguro de reparación en heridas muy contaminadas o en tejidos muy traumatizados. El cirujano realiza un aseo prolijo de la lesión y difiere el cierre para un periodo que va desde el tercer al séptimo día de producida la herida, de acuerdo a la evolución local, asegurando así un cierre sin complicaciones.²⁷

2.4.4. La cicatriz

Una cicatriz es la respuesta del organismo frente a una herida sobre un tejido epitelial, la cual se manifiesta por el crecimiento de tejido fibrinoide que cubre y rellena la lesión. Debido a que la restitución del tejido se efectúa con tejido fibrinoide con características no muy similares al tejido, la textura que se forma para cubrir el traumatismo es distinta a la textura de la piel.²⁸

El proceso se realiza por la acción del colágeno que producen los fibroblastos de las células cercanas a la herida. El exceso de colágeno es el que produce la cicatriz que suele ser roja en principio y, poco a poco, alcanza la coloración de

la piel. El tejido de la cicatriz no es tan elástico ni posee las secreciones aceitosas del tejido normal, lo cual hace que aparezcan más secas al tacto y que siempre posean una cierta sensación de picor o dolor. El proceso de cicatrización suele ser más intenso en las personas jóvenes que producen cicatrices más grandes y más gruesas que las mayores. Las cicatrices constituyen un motivo de preocupación por motivos estéticos, especialmente si estas aparecen en zonas del cuerpo tan visible como la cara.²⁹

- Síntomas: marcas, heridas, cicatrices, señales en la piel.
- Causas: cortes; son una de las principales causas de las cicatrices. Pueden estar originados por diferentes motivos (caídas, accidentes, golpes, cirugía, afeitado, etc.) cuando estos son amplios y profundos pueden dejar grandes cicatrices. Quemaduras; las quemaduras suelen dejar cicatrices sobre la piel. Cuando estas son muy serias pueden producir heridas hipertróficas (más desarrolladas de lo normal) y queloides (heridas tumorales gruesas, de mucho relieve, inicialmente rojizas y muy antiestéticas) que pueden llegar a limitar la movilidad del paciente. Las quemaduras que no han sido atendidas y no llegan a cicatrizar pueden desembocar en procesos cancerosos. Enfermedades; algunas cicatrices pueden ser el resultado de enfermedades, como las que se producen en la varicela, el acné, la psoriasis, etc.²⁹

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó con muestra vegetal que crece en el distrito de Huamanguilla a 3 276 m.s.n.m. provincia de Huanta, departamento de Ayacucho, en los Laboratorios de Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de setiembre 2012 a marzo del 2013.

3.2. Definición de la población y muestra

3.2.1 Población

Hojas de la especie *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", recolectadas en el distrito de Huamanguilla a 3 276 m.s.n.m. provincia de Huanta, departamento de Ayacucho.

3.2.2 Muestra

Constituida por 500 g de hojas secas de la especie de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", recolectados en el mes de setiembre 2012. Una parte fue utilizada para la identificación botánica en el Laboratorio de Botánica Herbarium Huamanguensis (Anexo 1).

3.2.3 Animales de experimentación

Para evaluar la actividad cicatrizante se utilizó 30 "ratones" machos albinos, *Mus musculus* de 25 - 35 g elegidos aleatoriamente, provenientes del Instituto

Nacional de Salud (Chorrillos - Lima). Fueron adquiridos con una semana de anticipación para su adecuación y ambientación.

3.2.4 Fármaco de referencia. Dermaclín Plus® (Polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos 1 por ciento). Laboratorios Quilab.

- **Polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos:** tienen acción bactericida, fungicida, antiviral y antiparasitaria extremadamente potente y de amplio espectro efectivo y potente acción residual.
- **Lidocaína:** es un anestésico local que ejerce una potente acción analgésica en la zona de aplicación. Actúa bloqueando la iniciación y conducción del impulso nervioso al disminuir la permeabilidad de la membrana neuronal al sodio iónico.

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1 Recolección e identificación de la muestra

Se procedió a recolectar hojas y tallos frescas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" en el distrito de Huamanguilla en horas de la mañana. Se seleccionó las plantas que no estén dañadas ni maltratadas, una parte de la planta se utilizó para la identificación botánica. Se procedió a separar los tallos y las hojas, se distribuyeron en una habitación ventilada sobre papel periódico para su secado por un periodo de dos semanas, cambiando papel todos los días, luego se procedió a disminuir su tamaño mediante el uso de un molino o licuadora. Finalmente fueron llevados al laboratorio para su uso.³⁰

3.3.2 Preparación del extracto hidroalcohólico

Una vez triturada las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", se pesó 500 g de muestra y luego se procedió a realizar una extracción hidroalcohólica con 1500 ml de etanol al 50 % con doble extracción, se maceró en frascos de color ámbar por un periodo de dos semanas, durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya

homogéneamente en la muestra, seguidamente se procedió a filtrar y añadir nuevamente etanol al 50 %, se maceró por una semana, luego se filtró; para obtener la solución hidroalcohólico total. Seguidamente se procedió a la evaporación el alcohol en baño maría 40 °C hasta obtener el extracto (Anexo 4 y Figura 8).

3.3.3 Identificación de metabolitos secundarios

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo el procedimiento de Miranda y Cuellar.³¹ (Anexo 7, 8, 9).

3.3.4 Preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa“.

Se gelificó el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa” (Anexo 10); con la finalidad de que exista una mejor adherencia, permanencia y absorción del extracto en la zona de sutura en los ratones en el test de cicatrización. La gelificación se realizó reconstituyendo de 1,0; 2,5 y 5,0 g de extracto hidroalcohólico con 20 ml de agua destilada y luego enrazando con agua destilada c.s.p 100 ml, soluciones que se calentaron para luego añadir un gramo de carboximetilcelulosa (CMC) al 1 %; 2,5 %; 5 %.

3.3.5 Determinación de la actividad cicatrizante

Modelo experimental. El modelo que se usó fue propuesto por Howes citado en Quispe,¹² que se basa en el fundamento del test de cicatrización.

Fundamento del Test de cicatrización. Se fundamenta en la adición de la fuerza de tensión (medida en gramos), necesaria para abrir una herida 1cm de longitud producidas en el lomo del “ratón”, según el modelo de referencia de Howes citado en Quispe,¹² (Anexo 11).

Procedimiento experimental

- Se depiló el lomo de *Mus musculus* de “ratones” en una área aproximada de

dos centímetros cuadrados y luego se observó 24 horas para ver si hay o no irritación.

- Se pesó los “ratones”, se marcó y fueron colocados en jaulas individuales con alimento y agua.
- Se anestesió con halatal (pentobarbital sódico) con 1 ml/2,5 kg por vía intraperitoneal.
- Luego se desinfectó el área depilada para realizar la incisión de 1cm de largo en el tercio del lomo y perpendicular al eje de la longitud del “ratón”.
- Se afrontó los bordes de la herida mediante un punto de sutura de nudo triple con seda negra en la parte central.
- Se administró la primera dosis de tratamiento a cada grupo: gel del extracto hidroalcohólico al 1,0 %; 2,5 %; 5,0 %, administrado por vía tópica, y se repitió cada 12 horas, por un periodo de tres días.
- Blanco (gel); estándar: Dermaclin plus®, cantidad necesaria hasta recubrir la herida cada 12 horas.
- Pasadas las 72 horas se procedió a sacrificar al “ratón” con una sobre dosis de pentobarbital sódico 1 por ciento.
- Se quitó el punto de sutura y colocó al animal en posición de cúbito ventral sobre el aparato de tensión.
- Se insertaron las agujas del aparato de tensión a 0,5 cm de los bordes de la herida y el agua contenido en la bureta se dejó caer al vaso hasta que generó una fuerza de tensión que abrió la herida en toda su longitud.
- Se anotó el nivel de agua alcanzado.
- Se determinó el porcentaje de la actividad que es la expresión de la resistencia que muestra la cicatriz al ser sometido a una tensión, y que es expresada en porcentaje con la siguiente fórmula:

$$\% A = \frac{X_{tto} - X_0}{X_0} \times 100$$

Dónde:

X_{tto} : Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado con los extractos

X_0 : Fuerza promedio para abrir la herida del grupo sin tratamiento (blanco).

3.4 Diseño experimental

Se empleó un diseño con post prueba y grupo testigo, para lo cual se clasificó en seis grupos experimentales, cada uno con cinco ratones distribuidos al azar, realizándose así cinco repeticiones para cada grupo:

Tratamiento	N° de animales
Grupo I : Blanco (gel)	6 ratones
Grupo II: Estándar (Dermaclín plus)	6 ratones
Grupo III : Gel al 1,0 % del extracto	6 ratones
Grupo IV : Gel al 2,5 % del extracto	6 ratones
Grupo V : Gel al 5,0 % del extracto	6 ratones

3.5 Análisis de datos

La media y la desviación estándar de los volúmenes de tensión se presentan en histograma y barras. Los diferentes tratamientos se contrastaron con el análisis de varianza (ANOVA) y Tukey con un nivel de confianza del 95 %.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa”.

Metabolitos secundarios	Prueba	Resultados
Compuestos fenólicos y/ o taninos	Cloruro férrico	+++
Flavonoides	Shinoda	++
Compuestos triterpénicos y/o esteroides	Liebermann-Burchard	++
Lactonas y cumarinas	Baljet	++
Catequina	Na ₂ CO ₃ + luz UV	+++
Saponinas	Espuma	+++
Alcaloides	Dragendorf	+
	Mayer	+
	Wagner	+

Leyenda:
Ausente(-)
Poco(+)
Moderado (++)
Abundante (+++)

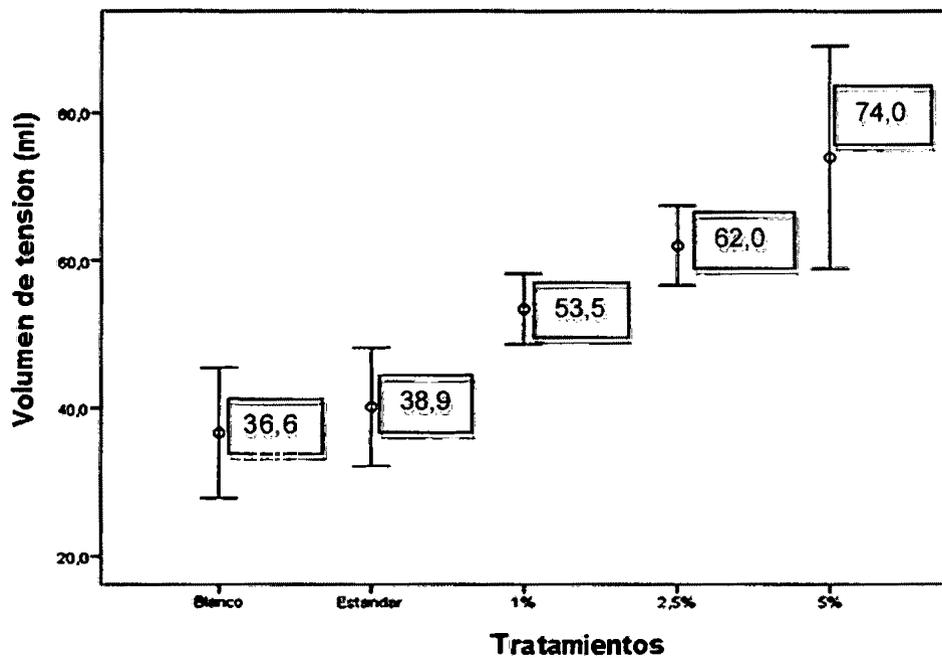


Figura 3. Volumen de tensión (ml) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" en diferentes tratamientos.

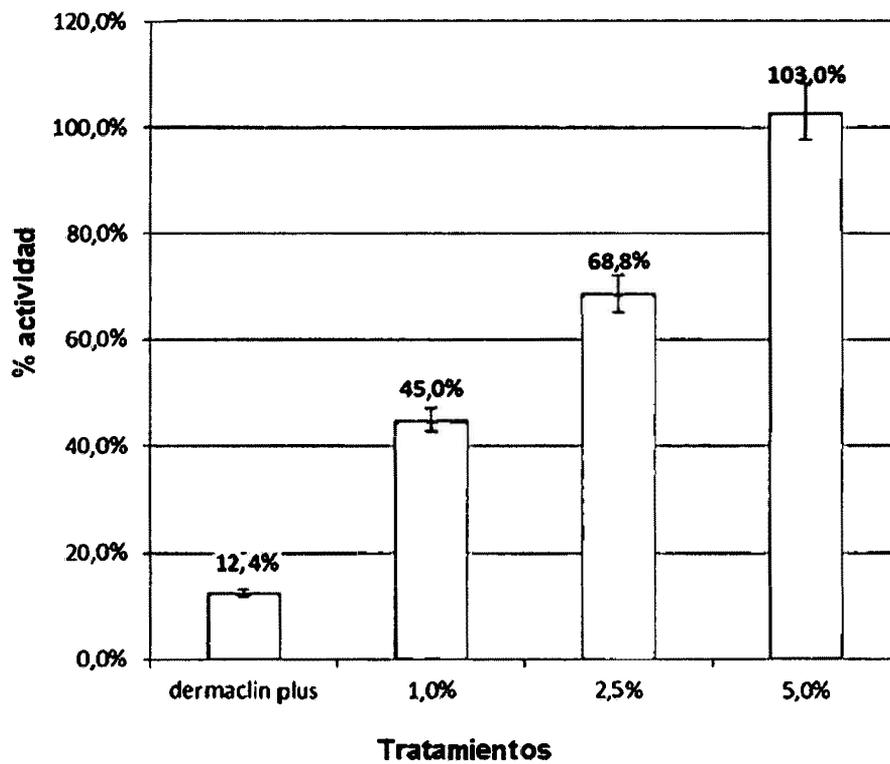


Figura 4. Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" en diferentes tratamientos.

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se propuso demostrar que los extractos obtenidos de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" presentan actividad cicatrizante, en el pasado, el objetivo principal del tratamiento de las heridas era su protección, dejando que la naturaleza repare el daño. La práctica actual, tiene el objetivo adicional de crear un ambiente local, ideal para las células y procesos implicados en la cicatrización. En un futuro, a medida que va avanzando la ciencia sobre los factores que intervienen en la cicatrización, sería posible, influir sobre los factores que controlan el proceso de cicatrización de heridas.³³

En la Tabla 1, Anexo 7 y 8 se desarrolló el tamizaje fitoquímico según la técnica de Miranda³¹ donde se reportan la presencia de taninos y/o fenoles, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, saponinas, triterpenos y/o esteroides, catequinas y alcaloides en menor proporción; estos metabolitos concuerdan con el trabajo de tamizaje fitoquímico realizado por Santillán.⁸ Lo que más destaca en el tamizaje fitoquímico es la presencia de taninos con la prueba de cloruro férrico al 1 %, coloración verde intensa, que indica la presencia de taninos condensados y es el responsable de la actividad farmacológica en estudio.¹⁹

Los compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y saponinas son conocidos por actuar aumentando la resistencia de vasos sanguíneos y disminuyendo su

permeabilidad, lo que favorece la irrigación sanguínea de zonas lesionadas.² Los metabolitos secundarios son los responsables de las diferentes actividades farmacológicas. Por otro lado, la capacidad de los taninos de unirse a proteínas produciéndose curtido de la piel que también favorece en el proceso de la cicatrización.²¹ Mediante el ensayo de la actividad atrapadora de radicales libres poseen actividad antioxidante, éste proceso estabiliza la proteína de la piel, mejora el suministro de la sangre, beneficiando así, la actividad cicatrizante en la piel.³

La cicatrización es un proceso muy complejo y dinámico que involucra la participación de diversos eventos celulares y bioquímicos para llevar a cabo la reparación del tejido lesionado.³²

La actividad cicatrizante se realizó mediante el método de Howes citado en Quispe¹², el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" se formuló bajo la forma farmacéutica de geles en diferentes concentraciones. La elección de un vehículo apropiado en preparaciones que se administra por vía tópica, tiene gran importancia, impacto sobre la absorción del fármaco activo y por ende sobre el efecto terapéutico del mismo. Es por este motivo que el extracto hidroalcohólico del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" fue gelificada a diferentes concentraciones de 1,0; 2,5; 5,0 %, se usó como control el vehículo (gel más carboximetilcelulosa). En la fase de hemostasia, los taninos cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y al detener el sangrado.³⁴ La cicatrización se produce por la formación de costras al unirse las proteínas con los taninos y crear un medio "seco" que impide el desarrollo de las bacterias. Al constreñir los vasos sanguíneos ayudan a la coagulación de la sangre y por tanto contribuyen a la curación de las heridas y además reduce el dolor sobre la piel³⁵

El estándar usado en el presente trabajo de investigación, fue el Dermaclín Plus®, un producto con un principio activo natural que permite la aplicación para desinfección de heridas, cortes, quemaduras y otras afecciones de la piel. El Dermaclín Plus® contiene polifenoles cuaternarios derivados de los bioflavonoides cítricos que le dan dicho efecto.¹²

En la Figura 4, se presenta el porcentaje de actividad cicatrizante de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa” obteniéndose mayor porcentaje al 5 % con 103 % seguido del 2,5 % y 1,0 % con 68,8 % y 45 % respectivamente; Curo¹¹ encontró que el extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* “yawar soqo” tiene actividad cicatrizante al 86,63 %. Hidalgo³ encontró cicatrizantes naturales en el árbol de sangre de grado *Croton lechleri* L. y determinó que el alcaloide tapsina es responsable de la actividad cicatrizante a una concentración de 150 µg/ml y 250 µg/ml 26 % y 30 % respectivamente.

En el Anexo 10, se muestra el análisis de varianza, que permite analizar si más de dos grupos difieren significativamente entre sí, en cuanto a sus medias y varianza. Los niveles de resistencia a la tensión alcanzados con todos los tratamientos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa” presentan una diferencia significativa al ser comparado con el estándar.

En el Anexo 11 se observó las comparaciones múltiples de los tratamientos con la prueba de Tukey para evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa” donde la prueba de Tukey muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado parecido existente entre sus medias: determinando así que el blanco difiere significativamente con los extractos hidroalcohólico al 1,0 %; 2,5 % y 5,0 %, mientras que el Dermaclín Plus ®(Estándar) no difiere significativamente con éste, es decir, posee al cercano comportamiento con el blanco.

En conclusión el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L.
Herit "hierba santa" presenta actividad cicatrizante superior al 100 %.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" presenta actividad cicatrizante.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" presenta metabolitos secundarios: compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, compuestos triterpénicos y/o esteroides, lactonas y/o cumarinas, saponinas, alcaloides y catequinas.
3. La dosis de mayor actividad cicatrizante (103 %) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" es la concentración de 5%.
4. El porcentaje de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" (103 %) tiene mayor actividad frente al estándar Dermaclín Plus® (12,4 %).

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios pre – clínicos de la actividad cicatrizante del *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa”, para poder obtener formas farmacéuticas que puedan comercializarse.
2. En futuros trabajos de investigación de la actividad cicatrizante se recomienda en la parte farmacológica realizarlo en ambientes individuales para cada animal de laboratorio e impedir daños colaterales durante el ensayo.
3. Realizar estudios de toxicidad de las hojas y frutos de del *Cestrum auriculatum* L. Herit “hierba santa”.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Herrera J. Breve historia de la Botánica en México Ibunam y Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 167 pp.; 1998.
2. Ríos L. Métodos Farmacológicos en la investigación de Productos Vegetales. Primera edición. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Marcos. Lima - Perú; 1990.
3. Hidalgo O. Determinación del efecto cicatrizante del extracto acuotánico de la planta *Bacopa procumbens* en línea celular 3T3 de fibroblastos de ratón [Tesis de maestría] México D.F: Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía; 2010.
4. Hinojosa Y. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni* "estevia". [Tesis pregrado]. Ayacucho. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2009.
5. Cárdenas A. Cicatrización de heridas. Editorial Melgarejo García Ingenieros Asociados. S.R.L.; Perú; 1993.
6. Fernández A. Plantas medicinales, usos tradicionales. Perú; 2010. URL:<http://www.canl.dinamic.es/medicina>.
7. Aguado I. Estudio fitoquímico y determinación de la actividad antimicrobiana y antiinflamatoria de *Cestrum auriculatum* L. Herit. "hierba santa" [Tesis pregrado]. Lima UNMSM; 1997.
8. Santillán R. Tamizaje fitoquímico y evaluación de la actividad antipirética del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* "hierba santa" [Tesis pregrado]. Ayacucho. UNSCH; 2004.
9. Ylesca C. Efecto sinérgico de los extractos etanólico de las hojas de *Borago officinales* L. "borraja" y de *Cestrum auriculatum* L. "hierba santa" en el tratamiento de la piresis en conejos [Tesis pregrado]. Ayacucho. UNSCH; 2005.
10. Buznego M, Pérez H. Efectos agudos del extracto del *Cestrum nocturnum* (galán de noche) sobre diferentes modelos de epilepsia experimental. [Revista cubana de plantas medicinales]* 2002 setiembre [acceso 19 de enero 2013]; Vol. 7 (02). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol7_2_02/pla03202.htm
11. Curo N. Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* "yawar soqo" [Tesis pregrado]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú; 2004.
12. Quispe M. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Junglia paniculata* (DC) A. Gray "matico de puna". [Tesis pregrado]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú; 2010.
13. Guillermo R. Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomia scutellaefolia* R. et. P., aspectos Etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico [Tesis pregrado] Lima – Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2002. Disponible: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/guillermo_n_r/resumen.htm
14. Arroyo D, Pareja B, Ruez J. Efecto cicatrizante del *Piper angustifolium* R. & P. sobre lesiones de piel inducidas en animales de experimentación. Folia Dermatológica Peruana [revista en internet] Marzo 1999. [acceso Febrero de 2013]; 10(1). Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/vol10_n1/dermofarmacia.htm
15. Brako L, Zaruchi J. Catalogue of the flowering Plants and Gymnosperms of Peru Monong. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.-USA; 1993.

16. Aucasime L. Certificado de clasificación taxonómica de Herbarium Huamangensis y descripción botánica de *Cestrum auriculatum* L. Herit. "hierba santa" FCB. UNSCH. Ayacucho; 2013.
17. Arrázola S, Atahuachi M, Saravia E, López A. Diversidad florística medicinal y potencial etnofarmacológico de las plantas de los valles secos de Cochabamba – Bolivia. Bol. Ecol. [revista en internet] 2002. [acceso Febrero de 2013]; 12:53-85. Disponible en: <http://www.cedsip.org/PDFs/3diversidad.pdf>
18. Villar de Fresno M. Farmacognosia General. Madrid-España: Síntesis S.A; 1999.
19. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de los productos naturales. Pontifica Universidad Católica del Perú. 2ª Ed. Lima. Fondo Editorial; 1994.
20. Kuklinski Cl. Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega; 2000.
21. Kuklinski Cl. Farmacognosia; estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. España: Omega S.A.; 2003.
22. Litter M. Compendio de Farmacología. 4ª ed. Buenos Aires - Argentina: el ateneo; 1988.
23. Esteva E. Ámbito Farmacéutico, Rev. OFFARM Vol.25 numero 08. Setiembre 2006.
24. Ramirez G. Fisiología de la cicatrización cutánea. Facultad de salud – RFS [revista en internet] Julio – Diciembre 2010. [acceso Febrero de 2013]; 2(2): 69 -78. Disponible en: <http://www.revistarfs.com/articulos/9--fisiología-de-la-cica.pdf>
25. Pillaca K. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las flores y hojas de *Ligaria cuneifolia* "tullma". [Tesis pregrado]. Ayacucho. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2008.
26. Clark RAF, Ashcroft Gs, Spencer Mj, Lajarz H, Ferguson MNS [British journal of Dermatology. Vol. 135, Nº- 1, 1996. PAG 46-51]. Reepithelialization of normal human excisional wounds is associated with a switch fom avb5 to avb6 integrins; 1996. [fecha de acceso 15 de diciembre de 2012].
27. Modolin N. Biología de la cicatrización de los tejidos. En: Melega J M, Zanini S.A, Psllakis J M (eds). Cirugía Plástica, Reparadora y Estética. Rio de Janeiro, Medsi; 1992.
28. Nieto E. 2010. Cirugía Plástica y Reconstructiva. La Cicatriz. Recuperado en:http://www.claudianieto.com/especialidades/cirugia_reconstructiva/cicatrices_queloides/cicatrices.html (28 - 01 -2010).
29. Chiappe A. Artículos de Recomendados de Cirugía Plástica Colombia. 2009.URL: http://www.susmedicos.com/art_cicatrices_Chiappe.htm
30. CYTED. Manual de técnicas de Investigación. Programan Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el desarrollo; Sub – Programan Química Fina Farmacéutica; 1993.
31. Miranda M. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad La Habana – Cuba; 2000.
32. Hardman J, Limbird L. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Décima edición. Editorial Mc Graw Hill. México; 2001.
33. Torra J. Manual de sugerencias sobre la cicatrización y cura en medio ambiente húmedo. [Monografía en línea]. [Acceso, 03 enero del 2013]. Disponible en URL: [http://www.coloplast.es/ecompany/esmed/homepage.nsf/0/f1f1bfa99c6b62ce41256a70002a349d/\\$FILE/Manual%20SSCAH.pdf](http://www.coloplast.es/ecompany/esmed/homepage.nsf/0/f1f1bfa99c6b62ce41256a70002a349d/$FILE/Manual%20SSCAH.pdf) <http://www.coloplast.es/>

34. Guillermo F, Arroyo A. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellaefolia* R. et. P En gel aplicados a *Ratus norvegicus*. [Revista Folia Dermatológica del Perú]. 2005. [fecha de acceso 15 de diciembre de 2012]. Volumen 16-1, pág. 15 - 22, 2005. Disponible en: http://200.62.146.31/sisbib/2002/guillermo_nr/pdf/guillermo_nr.PDF
35. Redobán K. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) en ratones. [Tesis pregrado]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba - Ecuador; 2012.

ANEXOS

Tabla 2. Certificado de identificación de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa"



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. Magna, HUAMÁN LOPE, 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	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SOLANALES
FAMILIA	:	SOLANACEAE
GENERO	:	Cestrum
ESPECIE	:	<i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit.
N.V.	:	"hierba santa"

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

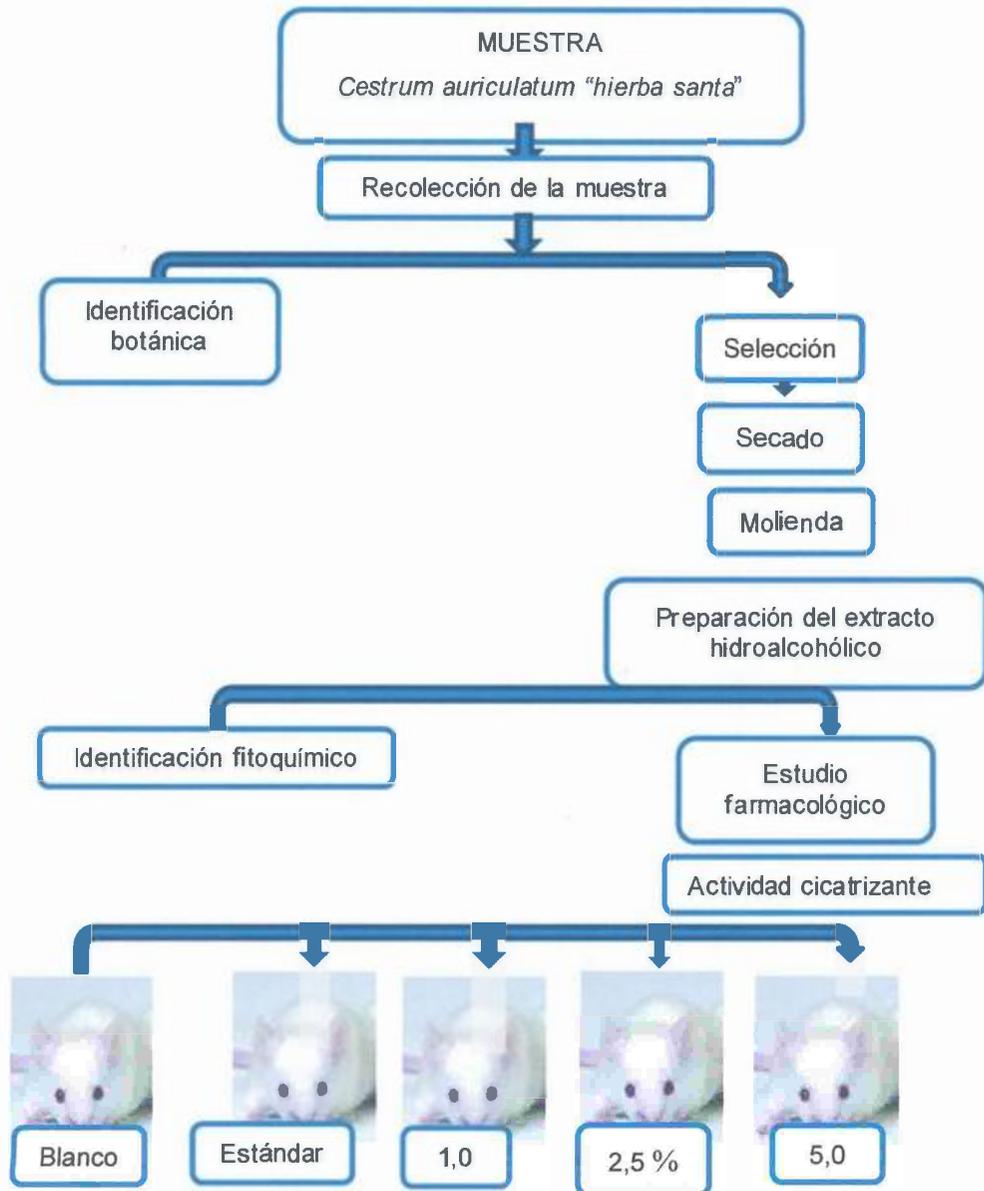
Ayacucho, 20 de Setiembre del 2012

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

Dña. Laura Arcobello Molino
JEFE

Anexo 2

Tabla 3. Procedimiento metodológico de la especie *Cestrum auriculatum* L. Herit



Anexo 3



Figura 5. *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa".

Anexo4



Figura 6. Preparación del extracto hidroalcohólico

Anexo 5



Figura 7. Recipiente conteniendo el extracto hidroalcohólico.

Anexo 6

Tabla 4. Tamizaje fitoquímico

Metabolitos Secundarios	Ensayos	Observación
Alcaloides	Dragendorf Mayer Wagner	Hay formación de precipitado en todas las reacciones, coloración naranja o marrón.
Lactonas Cumarinas	y Baljet	Formación de una coloración roja.
Flavonoides	Shinoda	Hay coloración naranja, carmelita o rojo en la fase amilica.
Quinonas	Borntrager	Si es positivo la fase amoniaca es de color rojizo o rosada.
Catequinas	Catequinas	Coloración verde carmelita a luz UV, indica un ensayo positivo.
Saponinas	Espuma	Si es positivo hay formación de espuma en la superficie.
Azúcares reductoras	Fehling	Si es positivo hay formación de precipitado rojo ladrillo.
Taninos Fenoles	y Cloruro Férrico	Formación de una coloración verde oscuro.
Aminas (aminoácidos)	Ninhidrina	Hay coloración azul violáceo.
Cardenólidos	Kedde	Coloración violácea.
Resinas	Resinas	Hay formación de precipitado.

Fuente: Miranda³¹

Anexo 8

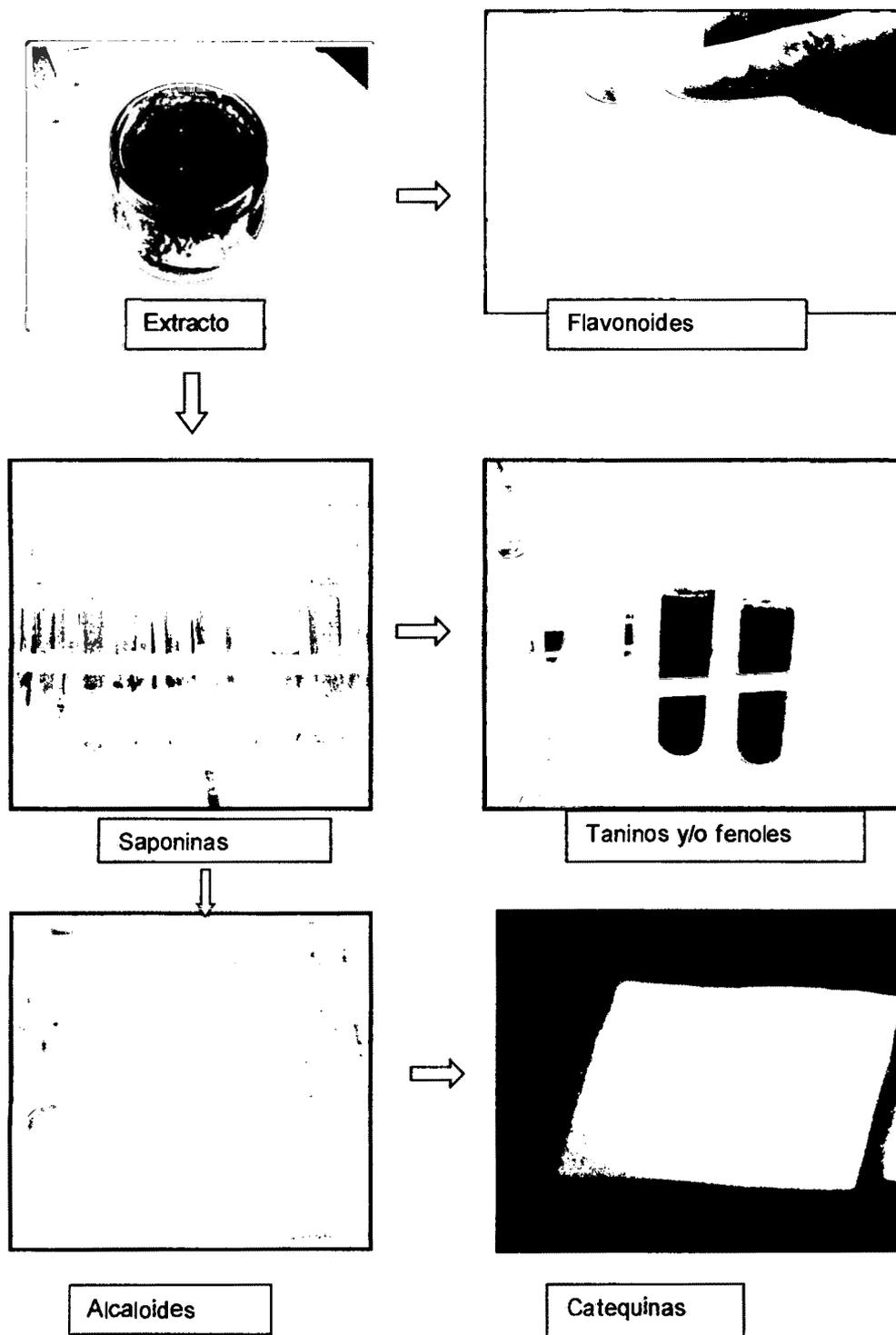


Figura 9. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico.

Anexo 9

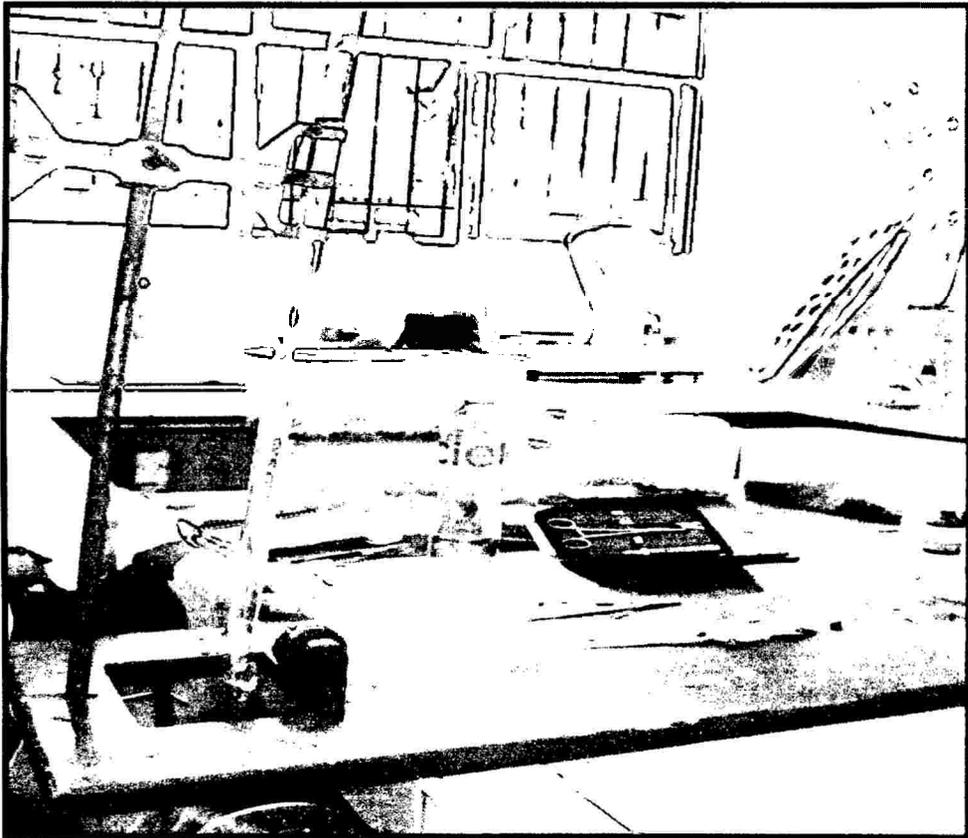


Figura 10. Equipo del volumen de tensión (ml).

Anexo 10

Tabla 5. Análisis de varianza de los volúmenes de tensión (ml)

	Suma de cuadrados	gl	media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3543,135	4	885,784	33,572	0,000
Intra - grupos	474,918	18	26,384		
Total	4018,052	22			

Anexo 11

Tabla 6. Prueba de Tukey de los promedios del volumen de tensión (ml)

		Subconjunto para alfa = 0,05			
Tratamientos	N	1	2	3	4
Blanco	6	36,625			
Estándar	5	38,92			
1%	6		53,500		
2,5%	6		62,000		
5%	6			74,000	
Sig.		0,850	0,154	1,000	

Tabla 7. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> L.	¿Tendrá actividad cicatrizante el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> L.	Objetivo general Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa". Objetivos específicos • Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa" • Determinar la dosis que tiene mayor actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa". • Comparar el porcentaje de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa" con un estándar "Dermaclin plus".	El extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa" tiene actividad cicatrizante	Variable independiente Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa". Indicadores: concentraciones : 1,0 %; 2,5 %, 5,0 % del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa"	Antecedentes generales. • Descripción botánica de <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit • Taxonomía • Características de la familia solanaceae • Características del género • Hábitat • Usos tradicionales secundarios • Estudios farmacológicos • Cicatrización • La cicatriz • Herida • Fisiología de la cicatrización.	Tipo de estudio: Básico Nivel de estudio: experimental Población: hojas de la especie <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa" recolectados en el distrito de Huamanguilla Región de Ayacucho. Muestra: 500 g de hojas secas de la especie de <i>Cestrum auriculatum</i> L. Herit "hierba santa". Unidad experimental: 30 ratones de 25-35 gr Diseño experimental: Básico experimental Procedimiento Experimental Se empleará el método de Howes (Medición de gramos necesarios para abrir la herida cicatrizada con un tensiómetro). Análisis estadísticos: el tipo de escala a utilizar en el presente será en gráficos ,histogramas donde se expresara la concentración de la muestra versus la actividad cicatrizante

Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit. "hierba santa".

Ayacucho – 2013.

Magna Huamán Iope¹, Marco Rolando Aronés Jara¹
¹Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

La cicatrización de las heridas conlleva un conjunto de procesos biológicos y celulares que se produce como respuesta de los tejidos a una lesión y tiene como finalidad, obtener la recuperación funcional de los mismos. El presente trabajo de investigación básico experimental se realizó con el objetivo de evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit. "hierba santa", durante los meses de setiembre del 2012 hasta febrero del 2013, en los laboratorios del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. La muestra fue recolectada en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho (altitud 3 276 m.s.n.m). Obteniendo el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", se realizó el tamizaje fitoquímico, los cuales fueron: Flavonoides, lactonas y cumarinas, triterpenos y esteroides, fenoles y taninos, saponinas, alcaloides. Para determinar la actividad cicatrizante se utilizó el modelo experimental propuesto por Howes *et al* que se basa en el fundamento del test de cicatrización. Se utilizó 30 ratones albinos machos de 25 a 35 g de peso, los cuales fueron divididos en cinco tratamientos: base (blanco), Dermaclin Plus® (estándar) y la concentración del extracto hidroalcohólico de hojas al 1,0 %, 2,5 % y 5,0 % respectivamente, obteniéndose los volúmenes de tensión como indicador de la cicatrización y se calculó el porcentaje de actividad cicatrizante. Los volúmenes promedio de tensión al 1,0 %, 2,5 % y 5,0 % del extracto hidroalcohólico fueron: 53,5 ml; 62,0 ml y 74,0 ml respectivamente, se observó que al 5 % tuvo mayor volumen de tensión con respecto al blanco y al estándar, con un 103 % de actividad cicatrizante. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", posee actividad cicatrizante de una forma dosis dependiente.

Palabra clave: Actividad cicatrizante, *Cestrum auriculatum* L. Herit

SUMMARY

The wound healing process involves a whole cell biological and occurs as tissue response to injury and is intended, to obtain functional recovery thereof. This experimental work was conducted basic research in order to evaluate the healing activity of the hydroalcoholic extract of leaves of *Cestrum auriculatum* L. Herit "Holy herb", during the months of September 2012 through February 2013, in the laboratories of the Department of Pharmacy, National University of San Cristobal de Huamanga. The sample was collected in the district of Huamanguilla, Huanta province, Ayacucho department (altitude 3276 m). Getting the hydroalcoholic extract of the leaves of *Cestrum auriculatum* L. Herit "Holy herb" phytochemical screening was performed, which were: flavonoids, lactones and coumarins, triterpenes and steroids, phenols and tannins, saponins, alkaloids. Determining healing activity tensiometric method was used and corroborated with longitudinal cuts in the back of the mouse to observe the evaluation in each case. We used 30 male albino mice of 25-35 g in weight, which were divided into five treatments: base (white), Dermaclin Plus ® (standard) and the concentration of the hydroalcoholic extract of leaves 1,0 %, 2,5 % and 5,0 % respectively, giving tension volumes as an indicator of healing and calculated the percentage of healing activity. Voltage average volumes of 1,0 %, 2,5 % and 5,0 % of the hydroalcoholic extract were 53,5 ml, 62,0 ml and 74,0 ml, respectively, was observed that was greater than 5 % volume voltage to the target and standard with 103 % healing activity. We conclude that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Cestrum auriculatum* L. Herit "holy herb", has healing activity in a dose dependent manner.

Key word: Activity healing, *Auriculatum Cestrum* L. Herit

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional es utilizada ampliamente desde tiempos ancestrales en nuestra región, el conocimiento sobre la salud, enfermedad, prevención y tratamiento ha sido transmitido de una generación a otra, a través del tiempo esto se basa exclusivamente en la experiencia y observación.¹

Hoy en día, la ciencia moderna estudia los efectos terapéuticos de las plantas medicinales y van precisando, comparando y clasificando las diversas propiedades para el tratamiento de las enfermedades que afectan a la población.²

La cicatrización de las heridas conlleva un conjunto de procesos biológicos y celulares que se produce como respuesta de los tejidos a una lesión y tiene como finalidad obtener la recuperación funcional de los mismos.³

La naturaleza atribuye propiedades farmacológicas sorprendentes al *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" como antipirético, antioxidante, diurético, anti espasmódico y cicatrizante.⁴

La finalidad de este trabajo es contribuir al amplio e inagotable campo de la investigación científica de una planta no tan conocida al precisar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" para lo cual se planteó los siguientes objetivos.

Objetivo General

- Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa".

Objetivos Específicos

- Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa".
- Determinar la dosis que tiene mayor actividad cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa".
- Comparar el porcentaje de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit. "hierba santa" con un estándar "Dermaclín Plus®".

MATERIALES Y MÉTODOS

DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN Y MUESTRA

Población

Hojas de la especie *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", que crece en el distrito de Huamanguilla a 3 276 m.s.n.m. provincia de Huanta, región Ayacucho.

Muestra

Constituyó 500 g de hojas secas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa".

Tipo de muestreo

Muestreo por conveniencia.

Animales de experimentación

Para evaluar la actividad cicatrizante se utilizó 30 ratones machos albinos, *Mus musculus* de 25 - 35 g elegidos aleatoriamente, provenientes del Instituto Nacional de Salud (Chorrillos - Lima). Fueron adquiridos con una semana de anticipación para su adecuación y ambientación.

DISEÑO METODOLÓGICO

Metodología para la recolección de datos

Recolección de la muestra

Se procedió a recolectar hojas y tallos frescos de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" en el distrito de Huamanguilla en horas de la mañana. Se seleccionó las plantas que no estén dañadas ni maltratadas, se procedió a separar los tallos y las hojas, se distribuyeron en una habitación ventilada sobre papel periódico para su secado por un periodo de dos semanas, cambiando papel todos los días.³

Preparación del extracto hidroalcohólico

Una vez triturada las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa", se pesó 500 g de muestra seca y molida luego se procedió a realizar una extracción hidroalcohólico con 1500 ml de etanol al 50 % con doble extracción, durante dos semanas, con una agitación constante para que el alcohol se distribuya homogéneamente, seguidamente se procedió a filtrar y a evaporar el alcohol en baño maría 40 °C hasta obtener el extracto.

Identificación de metabolitos secundarios

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo el procedimiento de Miranda y Cuellar.³

Preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* "hierba santa".

Se gelificó el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa". Con la finalidad de que exista una mejor adherencia, permanencia y absorción del extracto en la zona de sutura en los ratones en el test de cicatrización. La gelificación se realizó reconstituyendo de 1,0; 2,5 y 5,0 g de extracto hidroalcohólico con 20 ml de agua destilada y luego enrazando con agua destilada c.s.p 100 ml, soluciones que se calentaron para luego añadir un gramo de carboximetilcelulosa (CMC) al 1 %; 2,5 %; 5,0 %.

Determinación de la actividad cicatrizante

Modelo experimental: el modelo que se usó fue propuesto por Howes *et al* que se basa en el fundamento del test de cicatrización.

Fundamento del Test de cicatrización: se fundamenta en la adición de la fuerza de tensión (medida en gramos), necesaria para abrir una herida 1 cm de longitud producidas en el lomo de ratón, según el modelo de referencia de Howes.⁵

Procedimiento experimental:

- Se depiló el lomo *Mus musculus* los ratones en una área aproximada de dos centímetros cuadrados y luego se observó 24 horas para ver si hay o no irritación.
- Se pesó los ratones, se marcó y fueron colocados en jaulas individuales con alimento y agua.
- Se anestesió con halatal (pentobarbital sódico) con (1 ml/2,5 kg) por vía intra peritoneal.
- Luego se desinfectó el área depilada para realizar la incisión de 1 cm de largo en el tercio del lomo y perpendicular al eje de la longitud del ratón.
- Se afrontó los bordes de la herida mediante un punto de sutura de nudo triple con seda negra en la parte central.
- Se administró la primera dosis de tratamiento a cada grupo: gel del extracto hidroalcohólico al 1,0 %, 2,5 %, 5,0 %, administrado por vía tópica, y se repitió cada 12 horas, por un periodo de tres días.
- Blanco (gel); estándar: Dermaclín plus®, cantidad necesaria hasta recubrir la herida cada 12 horas.
- Pasada las 72 horas se procedió a sacrificar al ratón con una sobre dosis de pentobarbital sódico 1 por ciento.
- Se quitó el punto de sutura y colocó al animal en posición de cúbito ventral sobre el aparato de tensión.
- Se insertaron las agujas del aparato de tensión a 0,5 cm de los bordes de la herida y el agua contenido en la bureta se dejó caer al vaso hasta que generó una fuerza de tensión que abrió la herida en toda su longitud.
- Se anotó el nivel de agua alcanzado.
- Se determinó el porcentaje de la actividad que es la expresión de la resistencia que muestra la cicatriz al ser sometido a una tensión, y que es expresada en porcentaje con la siguiente fórmula:

$$\% A = \frac{X_{\text{tto}} - X_0}{X_0} \times 100$$

Dónde:

X_{TTO}: Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado con los extractos

X₀: Fuerza promedio para abrir la herida del grupo sin tratamiento (blanco).

Diseño experimental

Se empleó un diseño con post prueba y grupo testigo, para lo cual se clasificó en seis grupos experimentales, cada uno con cinco ratones distribuidos al azar, realizándose así cinco repeticiones para cada grupo:

Tratamiento	Nº de animales
Grupo I: Blanco (gel)	6 ratones
Grupo II: Estándar Dermaclín plus)	6 ratones
Grupo III: Gel al 1,0 % del extracto	6 ratones
Grupo IV: Gel al 2,5 % del extracto	6 ratones
Grupo V: Gel al 5,0 % del extracto	6 ratones

Análisis de datos

La media +/- la desviación estándar de los volúmenes de tensión se presentan en histograma y barras. Los diferentes tratamientos se contrastaron con el análisis de varianza (ANOVA) y Tukey con un nivel de confianza de 95 %.

RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa".

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados
Compuestos fenólicos y/o taninos	Cloruro férrico al 1%	+++
Flavonoides	Shinoda	++
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman-burchard	++
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	++
Catequinas	Na ₂ CO ₃ + luz UV	+++
Saponinas	Espuma Dragendorf	+++ +
Alcaloides	Mayer	+
	Wagner	+

Leyenda:

Ausente(-)

Poco(+)

Moderado(++)

Abundante (+++)

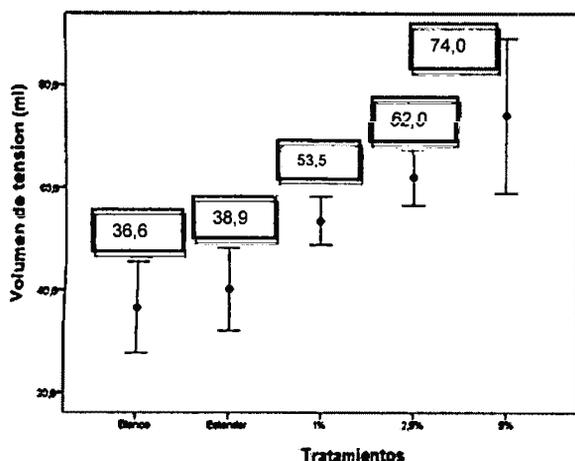


Figura 1. Volumen de tensión (mi) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" en los diferentes tratamientos.

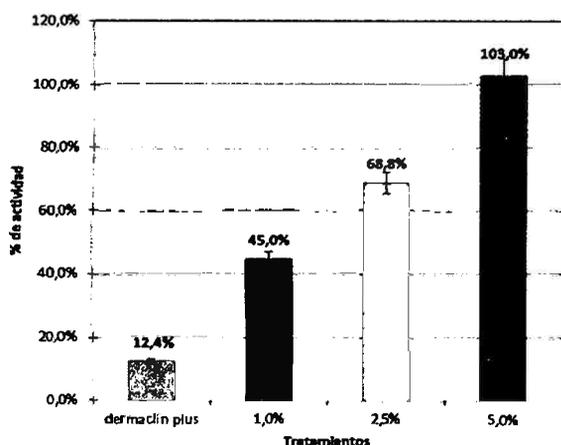


Figura 2. Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" en los diferentes tratamientos.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se propuso demostrar que los extractos obtenidos de las hojas del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa". Presentan actividad cicatrizante, en el pasado, el objetivo principal del tratamiento de las heridas era su protección, dejando que la naturaleza repare el daño. La práctica actual, tiene el objetivo adicional de crear un ambiente local, ideal para las células y procesos implicados en la cicatrización. En un futuro, a medida que va avanzando la ciencia sobre los factores que intervienen en la cicatrización, sería posible, influir sobre los factores que controlan el proceso de cicatrización de heridas.⁶

En la Tabla 1, se desarrolló el tamizaje fitoquímico según la técnica de Miranda.³ Lo cual reportan la presencia de taninos y/o fenoles, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, saponinas, triterpenos y/o esteroides, catequinas y alcaloides en menor proporción; estos metabolitos concuerdan con el trabajo de tamizaje fitoquímico realizado por Santillán.⁷

Los taninos están constituidas por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructuras polifenólicas, capaces de precipitar ciertas macromoléculas (proteínas, celulosas, gelatinas). Esta capacidad para precipitarlas es la base de sus propiedades principales: curtir la piel y su poder astringente que favorecen en el proceso de la cicatrización.⁸ Lo que más destaca en el tamizaje fitoquímico es la presencia de taninos con la prueba de cloruro férrico al 1 por ciento, coloración verde intensa, lo que señala la presencia de taninos condensados y es el responsable de la actividad farmacológica en estudio.⁸

Mientras compuestos fenólicos, flavonoides y saponinas son conocidos por actuar aumentando la resistencia de vasos sanguíneos y disminuyendo su permeabilidad, lo que favorece la irrigación sanguínea de zonas lesionadas.² También mediante el ensayo de la actividad atrapadora de radicales libres poseen actividad antioxidante, éste proceso estabiliza la proteína de la piel, mejora el suministro de la sangre, beneficiando así, la actividad cicatrizante en la piel.⁹

La cicatrización es un proceso muy complejo y dinámico que involucra la participación de diversos eventos celulares y bioquímicos para llevar a cabo la reparación del tejido lesionado.⁴ La actividad cicatrizante se realizó mediante el método de Howes *et al*, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" se formuló bajo la forma farmacéutica de geles en diferentes concentraciones. Es por este motivo que el extracto hidroalcohólico del *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" fue gelificada a diferentes concentraciones de 1,0; 2,5; 5,0 %, se usó como control el vehículo (gel más carboximetilcelulosa). En la fase de hemostasia, los taninos cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y al detener el sangrado. La cicatrización se produce por la formación de costras al unirse las proteínas con los taninos y crear un medio "seco" que impide el desarrollo de las bacterias. Al constreñir los vasos sanguíneos ayudan a la coagulación de la sangre y por tanto contribuyen a la curación de las heridas y además reduce el dolor sobre la piel.¹¹

El estándar usado en el presente trabajo de investigación, fue el Dermaclín Plus®, un producto con un principio activo natural que permite la aplicación para desinfección de heridas, cortes,

quemaduras y otras afecciones de la piel. El Dermaclín Plus® contiene polifenoles cuaternarios derivados de los bioflavonoides cítricos que le dan dicho efecto.¹²

En la figura 2, se presenta el porcentaje de actividad cicatrizante de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" obteniéndose mayor porcentaje al 5 % con 103 % seguido del 2,5 % y 1,0 % con 68,8 % y 45 % respectivamente; el estándar al 12 %. Al comparar con otros trabajos de investigación, donde el extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* "yawar soqo" demostró que tiene actividad cicatrizante al 86,63%¹³. Uno de los cicatrizantes naturales más estudiado es el árbol de sangre de grado *Croton lechleri* L. siendo el alcaloide tapsina responsable de la actividad cicatrizante a una concentración de 150 µg/ml y 250 µg/ml 26 % y 30 % respectivamente.²

Se muestra el análisis de varianza, que permite analizar si más de dos grupos difieren significativamente entre sí, en cuanto a sus medias y varianza. Los niveles de resistencia a la tensión alcanzados con todos los tratamientos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" presentan una diferencia significativa al ser comparado con el estándar.

El nivel de significancia de 0,05 el cual implica que el investigador tiene 95 % de seguridad para generalizar sin equivocarse y sólo 5 % en contra. En términos de probabilidad de 0,95 y 0,05 respectivamente ambos suman la unidad.¹¹

Se observa las comparaciones múltiples de los tratamientos con la prueba de Tukey para evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" donde la prueba de Tukey muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado parecido existente entre sus medias: determinando así que el blanco difiere significativamente con los extractos hidroalcohólico al 1,0 %; 2,5 % y 5,0 %, mientras que el Dermaclín Plus® (Estándar) no difiere significativamente con éste, es decir, posee al cercano comportamiento con el blanco.

En conclusión el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* L. Herit "hierba santa" presenta actividad cicatrizante superior al 100 %.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cárdenas A. Cicatrización de heridas. Editorial Melgarejo García Ingenieros Asociados. S.R.L.; Perú; 1993.
2. Fernández A. Plantas medicinales, usos tradicionales. Perú; 2010. URL:<http://www.canl.dinamic.es/medicina>.
3. Miranda Cuellar M. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad La Habana – Cuba; 2000.
4. Hardman J y Limbird, L. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Décima edición. Editoreal Me Graw Hill. México; 2001.
5. Pillaca K. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las flores y hojas de *Ligaria cuneifolia* "Tullma". [Tesis pregrado]. Ayacucho. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2008.
6. Redrobán, K. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) en ratones. [Tesis pregrado]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba - Ecuador; 2012.
7. Santillán R. Tamizaje fitoquímico y evaluación de la actividad antipirética del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* "hierba santa" [Tesis pregrado]. Ayacucho. UNSCH; 2004.
8. Kuklinski Cl. Farmacognosia; estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. España: Omega S.A.; 2003.
9. Ríos L. Métodos Farmacológicos en la investigación de Productos Vegetales. Primera edición. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Marcos. Lima-Perú; 1990.
10. Torra J. Manual de sugerencias sobre la cicatrización y cura en medio ambiente húmedo. [Monografía en línea]. [Acceso, 03 enero del 2013]. Disponible en URL:[http://www.coloplast.es/ecompany/esmed/homepage.nsf/0/flf1bfa99c6b62ce41256a70002a349d/\\$FILE/Manual%20SCCAH.pdf](http://www.coloplast.es/ecompany/esmed/homepage.nsf/0/flf1bfa99c6b62ce41256a70002a349d/$FILE/Manual%20SCCAH.pdf).<http://www.coloplast.es/>
11. Guillermo F, Arroyo A. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellae folia* R. et. P En gel aplicados a *Ratus norvegicus*. [Revista Folia Dermatológica del Perú]. 2005. [fecha de acceso 15 de diciembre de 2012]. Volumen 16-1, pág. 15 - 22, 2005. Disponible en: http://200.62.146.31/sishib/2002/guillermo_nr/pdf/guillermo_nr.PDF
12. Quispe M. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Junglia paniculata* (DC) A. Gray "matico de puna". [Tesis pregrado]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú; 2010.
13. Curo N. Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* "yawar soqo" [Tesis pregrado]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú; 2004.