

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

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



**Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de
las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana
taya" en ratones albinos. Ayacucho - 2012**

Tesis para optar el título profesional de

QUÍMICO FARMACÉUTICA

Presentado por

Bach. GARCÍA LEÓN Madaleyne

AYACUCHO - PERÚ

2012

A Dios, a mis ángeles Bhetsy y abuelita

A mis padres Julián y Elizabeth

A mi hermano Orlando

AGRADECIMIENTOS

A mi aima Máter, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por ser formadores de profesionales.

A la Facultad de Ciencias Biológicas en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica por el soporte institucional para la culminación del presente trabajo de investigación.

A todos mis docentes por la formación entregada y por incentivarme siempre a amar y respetar la profesión.

A mis asesores, Mg. Enrique Agullar Felices, Mg. Marta Romero Viacava y Dr. Aldo Tingo Jayo, por todos los conocimientos que compartieron conmigo y por su valioso tiempo dedicado al presente trabajo.

A todas las personas por el apoyo brindado en la ejecución de mi trabajo y por estar siempre a mi lado.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	iv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Baccharis tricuneata</i>	5
2.3. Metabofitos secundarios.....	8
2.4. Cicatrización.....	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Lugar de ejecución.....	13
3.2. Población.....	13
3.3. Muestra.....	13
3.4. Animales de experimentación.....	13
3.5. Diseño Metodológico.....	14
3.6. Análisis de los resultados.....	18
IV. RESULTADOS.....	19
V. DISCUSIÓN	24
VI. CONCLUSIONES	31
VII. RECOMENDACIONES.....	32
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
IX. ANEXOS	37

Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" en ratones albinos. Ayacucho -2012.

Autor : Bach. Madaleyne GARCÍA LEÓN.

Asesores : Mg. Enrique AGUILAR FELICES.

Mg. Marta ROMERO VIACAVA.

Dr. Aldo TINCO JAYO.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó para evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya", durante los meses de julio a octubre del 2012, en los laboratorios del Área de Farmacia de la UNSCH. La muestra fue recolectada en el distrito de Quinua, ubicado al noreste de la ciudad de Ayacucho en el mes de agosto del 2012. La identificación taxonómica se realizó en el Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH. Las reacciones de coloración y precipitación se realizaron siguiendo los procedimientos descritos por Miranda (2000). EL modelo experimental usado fue propuesto por Howes y Col. (1929) que se basa en el fundamento del test de cicatrización. Se utilizó 25 ratones albinos machos de 15 a 24 g de peso, los cuales fueron clasificados en cinco tratamientos: base (blanco), Demaclin Plus® (estándar), extracto hidroalcohólico de hojas al 0,5%, 1% y 2% de *Baccharis tricuneata*. Los metabolitos secundarios encontrados en la identificación fueron: compuestos fenólicos (flavonoides, taninos condensados), compuestos triterpénicos y/o esteroides, catequinas, resinas. Los volúmenes promedios de tensión al 0,5%, 1% y 2% del extracto hidroalcohólico fueron: 45,40 mL, 52,80 mL y 21,10 mL respectivamente cada uno. Se observó que al 0,5% y 1% tienen el mayor volumen de tensión con respecto al blanco, lo que significa que el extracto posee efecto cicatrizante. A menor concentración del extracto aumentó el volumen de tensión demostrando diferencia significativa de los tratamientos ($p < 0,05$). El extracto con mayor actividad cicatrizante fue al 1% con 87,78% seguido del 0,5% con 61,95%; el extracto al 1% difiere significativamente con el estándar, pero el extracto al 0,5% posee similar comportamiento con el extracto al 1% ($p < 0,05$). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya", posee efecto cicatrizante.

Palabra clave: efecto cicatrizante, *Baccharis tricuneata*.

I. INTRODUCCIÓN

La herida es una pérdida de continuidad de los tejidos blandos que produce la interrupción en la estructura del tejido y una comunicación entre el interior de la herida y el exterior (Chocarro y Venturini, 2006). 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 (Cárdenas, 1993).

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha realizado desde tiempos inmemoriales. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso de que disponían los antiguos médicos (Guevara, 2000).

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 (Ríos, 1990).

Por ello, actualmente hay diferentes tratamientos que ayudan a la reparación de heridas. Sin embargo, diversas investigaciones han buscado nuevos productos que favorezcan la cicatrización, encontrando en las plantas un método terapéutico. Nuestros antepasados le han dado muchos usos a las plantas para diferentes padecimientos, entre ellos para la cicatrización. Muchas de las plantas

utilizadas a pesar de que han demostrado en la medicina tradicional tener efectos benéficos, no han sido estudiadas a nivel científico, por lo tanto no existen evidencias sobre su dosis, tiempo de tratamiento.

Tal es el caso de la planta *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya", usada por los pobladores del distrito de Quinua, departamento de Ayacucho (Perú) para la inflamación (riñones y hígado), curación de todo tipo de heridas. Ya que no se tiene un conocimiento científico, que valide esta propiedad, es de gran interés investigar dicho efecto y aportar un conocimiento a la ciencia, a los pobladores que la utilizan, y una posible nueva alternativa económica y que ayude a la eficiente y rápida cicatrización.

En el presente trabajo tratamos de precisar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" para lo cual se trazaron lo siguientes objetivos.

Objetivo General:

- Evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya".

Objetivos Específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" mediante identificación cualitativa.
- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" que tiene mayor efecto cicatrizante.
- Determinar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" por el método de dosis límite.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes.

Las plantas medicinales nos devuelven la mirada a la naturaleza, a la armonía del ser humano con su entorno y a una cultura donde lo vegetal, en términos de salud, también tiene algo que ofrecemos. Además, la popularidad de las plantas medicinales va en aumento; pues las personas siguen recurriendo a los remedios vegetales para aliviar sus enfermedades comunes, por ello un esfuerzo por regresar a los productos naturales representa un aporte significativo ya que son un recurso que debe conocerse, usarse y cuidarse como parte del rico patrimonio natural del país (Quesada, 2008).

El conocimiento de las plantas medicinales ha vuelto a tener un auge acelerado y cada día se ubica en un destacado lugar como una de las medicinas alternativas del futuro que garantiza eficacia, seguridad y bajos costos, siempre y cuando sea usado en forma adecuada (Fonnegra y Jimenez, 2007).

Actualmente se están realizando estudios para evaluar los efectos de las diferentes plantas medicinales de acuerdo al uso tradicional que se les atribuye e investigando los principios activos responsables de una determinada acción farmacológica y los metabolitos secundarios que éstos presentan (Bruneton, 1991).

Rojas (2009), determinó el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Baccharis tricuneata* "yana taya" en ratas albinas, mediante el método del edema plantar inducido por carragenina, concluyendo que el extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Baccharis tricuneata* "yana taya" posee efecto antiinflamatorio.

En nuestra universidad se han venido desarrollando diversos trabajos de efecto cicatrizante utilizando el test de Howes, entre los que podemos mencionar:

- Curo (2004), estudió la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* "yawar soqo", concluyendo que la concentración de 500 mg/Kg de peso es la que tiene mayor actividad cicatrizante (86,63%), con respecto a las demás concentraciones.
- Diaz (2007), evaluó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas y raíces de *Gamochaeta americana* (Mill.) Wedd. "qeto qeto", en ratones albinos hembras distribuidos aleatoriamente, resultando que a 100 mg/5 mL mostró mejor eficacia frente al fármaco Cicatrin en crema usado como patrón.
- Pillaca (2008), demostró el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las flores y hojas de *Ligaria cuneifolia* "tullma" en ratones albinos, concluyendo que el extracto hidroalcohólico de hojas y flores al 1% (partes iguales) de *Ligaria cuneifolia* "tullma" tiene mejor efecto cicatrizante que el Cicatrin.
- Hinostroza (2009), evaluó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de *Stevia Rebaudiana Bertoli* "estevia", concluyendo que el extracto hidroalcohólico de tallos y hojas al 1,5% y 2,0% de estevia tiene efecto cicatrizante estadísticamente superior al Cicatrin.

- Flores (2010), estudió el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cuchu", concluyendo que el extracto hidroalcohólico de tallos al 2% de quimsa cuchu, es la que presenta efecto cicatrizante estadísticamente superior al Dermaclin Plus®.
- Mendoza (2010), determinó el efecto cicatrizante del extracto alcohólico del fruto de *Sambucus peruviana* "sauco", en ratones albinos resultando que a 1000 mg/kg de peso es la que tiene mejor efecto cicatrizante siendo estadísticamente superior al resto de concentraciones y blanco.
- Quispe (2010), demostró la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Junglia paniculata* (D C) 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 Dermaclin Plus®.

2.2. *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers.

2.2.1. Clasificación taxonómica

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: ASTERALES
FAMILIA	: ASTERACEAE
GENERO	: <i>Baccharis</i>
ESPECIE	: <i>Baccharis tricuneata</i> (L. F.) Pers.
Nombre vulgar	: "yana taya"

Fuente: Certificado emitido por el Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo N°01).

2.2.2. Descripción botánica de la familia Asteraceae

La familia Asteraceae es el grupo sistemático más numerosos dentro de las Angiospermas, comprendiendo cerca de 1,100 géneros y 25000 especies. Son plantas de aspecto extremadamente variado, que incluyen hierbas o arbustos y raramente árboles. Cerca del 98% de los géneros están constituidos por plantas de pequeño porte, se les encuentra en todos los tipos de hábitats, pero principalmente en las regiones tropicales y montañosas de América del Sur. Las plantas de esta familia, han sido extensamente estudiadas, en cuanto a su composición química y actividad biológica, habiendo alguna de ellas proporcionado nuevos fármacos, insecticidas, entre otros. Numerosos trabajos científicos realizados con especies de la familia Asteraceae reportan el aislamiento de una variedad de metabolitos secundarios, donde destacan los flavonoides, a los que se consideran como importantes marcadores quimiotaxonómicos, además de su reconocida importancia para la medicina, en el tratamiento y prevención de varias dolencias (Gonzaga y Col., 2005).

2.2.3. Descripción del género *Baccharis*.

El género *Baccharis* está representada por más de 500 especies, distribuidas principalmente en el Brasil, Argentina, Colombia, Chile, México, ocupando las regiones más elevadas; son plantas arbustivas de porte bajo, resinosas, propia de zonas de clima frío-templado, desde 2800 hasta los 3500 m.s.n.m. (Gonzaga y Col., 2005).

2.2.4. Descripción Botánica de *Baccharis tricuneata*

Arbusto de hasta 1.2 metros de altura, muy ramificado y lignificado desde la base, apretado de follaje en las plantas terminales y distinguible por sus hojas pequeñas, coriáceas y muchas del borde entero. Las flores se reúnen en inflorescencia en cabezuelas o capítulos, blanquecinas pequeñas, axiales o terminales de 0,5 cm a 1 cm. de longitud, solitarios o en grupos de 2 a más,

multibracteadas, con pedúnculos cortos, de 2 a 3 mm de longitud de color blanquecino. La especie es dioica. Flores masculinas de unos 0,7 mm. de longitud, el papus y la corola pilosos, esta con 5 dientes en la parte terminal. Los estambres son 5, con anteras muy alargadas y amarillas cuando frescas. En las flores masculinas, el gineceo es reducido y estigma brevemente exserto. Flores femeninas algo más grandes que las masculinas, con el papus glabro, la corola filiforme, raramente pilosa en la parte distal, conteniendo en su interior el gineceo, que es exserto. El fruto es aquenio de 0,5 cm a 1,3 cm de longitud, alargado, glabro, con el papus blanquecino (Romero y Col., 2006).

2.2.5. Usos medicinales

Un estudio de las especies del género *Baccharis* ha mostrado grandes avances, debido a su reputado uso en la medicina casera en América Latina. Por ejemplo, en Brasil y Argentina, *B. crispa* y *B. notoserjila* son usadas para curar heridas e inflamaciones. Entre los estudios de actividad biológica destacan, los efectos alelopáticos, antimicrobianos, citotóxicos y antiinflamatorios, antidiabéticos. Entre las especies más estudiadas, en cuanto a su composición química y actividad biológica, se encuentran: *B. megapotamica*, *B. incarum*, *B. trimera*, *B. trinervis*, *B. salicifolia*, *B. crispa*, *B. coridifolia*, *B. dracunculifolia*, *B. grisebachii* y *B. tricuneata* (Gonzaga y Col., 2005).

Baccharis tricuneata es una planta muy reconocida en la medicina tradicional ya que es ampliamente usada en:

- Desórdenes digestivos, malaria, úlceras, diabetes, anemia, diarrea, inflamaciones urinarias, amigdalitis, entre otras (Gonzaga y Col., 2005).
- Cicatrizante de heridas (Peña y Col., 1998).

2.2.6. Composición química

Los compuestos que más destacan son los flavonoides y los diterpenos de núcleo clerodanos, triterpenos. Refiere la presencia de una flavanona identificada como la 5,4-OH-7-oMe-flavanona denominada con el nombre de sakuranetina (Gonzaga y Col., 2005).

2.3. Metabolitos secundarios relacionados con la cicatrización

2.3.1. Flavonoides

Las plantas superiores sintetizan una amplia variedad de compuestos fenólicos durante su crecimiento y desarrollo, entre ellos, los flavonoides. Éstos compuestos productos de la ruta biosintética del ácido fenilpropanoico, intervienen en los vegetales en la formación de pigmentos (contribuyendo a la coloración de fruto, flores y hojas), en la protección frente a la radiación ultravioleta (Villar del Fresno, 1999).

Desde el punto de vista farmacológico contrarrestan la fragilidad capilar de los vasos sanguíneos, favoreciendo por tanto los procesos circulatorios (Evans, 1991).

2.3.2. Diterpenos

Los diterpenos constituyen moléculas de 20 carbonos que se presentan en forma de hidrocarburos, alcoholes, cetonas, lactonas y ácidos carboxílicos. Son compuestos que se encuentran ampliamente en el género *Baccharis* y que muestran actividad antitumoral, biocida, antiinflamatoria (Gonzaga y Col., 2005).

2.3.3. Taninos

El término tanino designa a ciertas sustancias presentes en extractos vegetales capaces de combinarse con las proteínas de la piel, evitando su putrefacción y convirtiéndola en cuero. Son conocidos por sus propiedades astringentes, dicha propiedad está ligada por su capacidad para unirse a las proteínas de la piel y de las mucosas (Villar del Fresno, 1999).

2.4. Cicatrización

Es un proceso biológico que se produce mediante una compleja interacción entre numerosos tipos de células, sus citosinas o mediadores y la matriz extracelular (Gallardo y Col., 2009).

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 (Morales, 2007).

2.4.1 Fases de la cicatrización:

FASE I: Hemostasia

La hemostasia y coagulación se inicia con la activación de los elementos celulares de la sangre y lleva a la formación del coágulo o tapón hemostático, proceso en el cual interfiere la cascada de los factores de la coagulación y el fenómeno de agregación plaquetaria.

Inicialmente se adhieren las plaquetas al intersticio, donde la trombina y el colágeno fibrilar expuesto las activa, como resultado de esta activación se produce su degranulación, liberando numerosos mediadores: entre ellos fibrinógeno, fibronectina y trombospondina que intervienen en la agregación plaquetaria, el factor VIII, de Von Willebrand que contribuye a la adhesión plaquetaria (Ramírez, 2010).

FASE II: Inflamatoria

Esta fase se caracteriza por la migración de neutrófilos a la herida, atraídos por factores quimiotácticos específicos, como el factor estimulador de colonias de granulocitos / macrófagos (GM-CSF), la kalikreína y los fibrinopéptidos. Una vez que los neutrófilos migran al intersticio, se dan las interacciones "célula-célula" y "célula-matriz" favorecidas por las integrinas iniciando así la función de fagocitosis de bacterias y proteínas de la matriz por medio de liberación de enzimas específicas (hidrolasas, proteasas y lisozimas) y radicales libres de

oxígeno. Finalmente, los neutrófilos agotados quedan atrapados en el coágulo y se disecan con él, y los que permanecen en tejido viable mueren por apoptosis y posteriormente son removidos por los macrófagos o fibroblastos. Posteriormente, se produce el acúmulo de monocitos que reemplazan a los neutrófilos, los monocitos de los vasos, al migrar al tejido se transforman en macrófagos y se unen a proteínas de la matriz extracelular mediante receptores de integrina, promoviendo la fagocitosis. Los macrófagos, una vez unidos a la matriz extracelular, sufren un cambio fenotípico, y pasan de comportarse como células inflamatorias a comportamiento de células reparadoras, que liberan citoquinas y factores de crecimiento (TGF α y β , PDGF, FGF y IGF-1) (Ramírez, 2010).

FASE III: Proliferativa o de Granulación

Los fibroblastos constituyen las células más importantes en la producción de matriz dérmica, llegan a la herida desde músculo, tendón, fascia y una vez en el lecho de la lesión, migran con movimientos activos sobre una matriz laxa de fibronectina, para ello el PDGF hace que exprese receptores de integrina $\alpha 1$ y $\alpha 5$, posibilitando la migración e interacción con los demás factores de crecimiento.

Con la migración de fibroblastos estos depositan una neomatriz provisional de fibronectina y ácido hialurónico estimulados por citoquinas y factores de crecimiento (TGF β , PDGF, TNF, FGF, IL1 e IL4) para comenzar a sintetizar la matriz de colágeno (tipos I, III y VI) y una vez que se depositó una suficiente cantidad, cesa la producción, debido a que el α INF y la misma matriz inhiben la proliferación de fibroblastos y la síntesis de colágeno. La angiogénesis y la formación de tejido de granulación se inician simultáneamente con la fibroplasia (Ramírez, 2010).

FASE IV: Epitelización.

Para que se lleve a cabo la epitelización de la herida, los queratinocitos deben migrar desde los bordes de la herida con el fin de restablecer la barrera cutánea, dicha migración consiste en la pérdida del aparato de adhesión gracias a la retracción de los tonofilamentos y disolución de los desmosomas; adquisición del aparato motor por el desarrollo de filamentos de actina y la proyección de lamelopodios hacia la herida.

Este ciclo de activación del queratinocito comienza con la IL-1, que lo transforma en célula hiperproliferativa y migratoria, dicha actividad la realiza sobre una matriz rica en fibronectina y mediada por receptores de superficie integrínicos ($\alpha 5$ - $\beta 1$) y TGF β . Luego la migración será sobre la matriz definitiva rica en colágeno, mediada por receptores de superficie colagénicos ($\alpha 2$ - $\beta 1$); para que se realice este proceso, en la membrana basal desaparecen la laminina y el colágeno de tipo IV. La proliferación ocurre en forma superpuesta a la migración, mientras las células epiteliales migran a través de la herida, las células proximales proliferan por el estímulo de mediadores solubles (EGF/TGF α , PDGF/ FGF, etc.) y al "efecto borde".

Para que el queratinocito finalice su proceso de migración y proliferación existen varias señales: el INF γ y producido por las células inflamatorias lo estimula a expresar citoqueratina 17, que lo convierte en contráctil y facilita la reorganización de la matriz de la membrana basal provisoria y el TGF β estimula la producción de queratinas K5 y K14 que lo convierten en una célula basal (Ramírez, 2010).

FASE V: Remodelación

Es la última etapa, comienza al mismo tiempo que la fibroplasia y continúa por meses. La célula principal es el fibroblasto que produce fibronectina, ácido hialurónico, proteoglicanos y colágeno durante la fase de reparación, los cuales sirven como base para la migración celular y soporte tisular. Posteriormente, el

colágeno tipo III es reemplazado por el de tipo I, siendo éste más estable y similar al original.

Los fibroblastos sufren una serie de cambios fenotípicos. Primero adoptan un fenotipo migratorio, luego un fenotipo profibrótico (mientras producen colágeno I, III y VI) y posteriormente, adoptan el fenotipo de miofibroblasto, rico en microfilamentos de actina en el lado citoplasmático de la membrana y establece uniones célula-célula (adherentes) y uniones con la matriz extracelular a través de receptores integrínicos, estas uniones crean una red a través de la herida y así la tracción que realizan los fibroblastos a la matriz pericelular se puede transmitir dando como resultado una contracción coordinada, estimulada por el TGF β , la angiotensina, las prostaglandinas, la bradiquinina y la endotelina (Ramírez, 2010).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacognosia, Farmacología y Toxicología del Área de Farmacia, de la Facultad de Ciencias Biológicas en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de julio a octubre del 2012.

3.2 Población

Plantas de la especie *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya", recolectadas en el distrito de Quinoa ubicado al noreste de la ciudad de Ayacucho (altura 3270 m.s.n.m).

3.3. Muestra

Un kg de ramas con hojas tiernas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya", seleccionándose aquellas que se encontraban en buen estado. Una parte sirvió para la identificación botánica por la Bióloga Laura Aucasime Medina del Herbarium Huamangensis (Anexo N°01).

3.4. Animales de experimentación

Para el efecto cicatrizante, se emplearon 25 ratones albinos de un sólo sexo (machos), y para la toxicidad aguda, se usaron 20 ratones albinos (10 machos y 10 hembras); de la cepa Balb/c/CNPB; de un peso aproximado de 15 - 24

gramos de 25 a 32 días de edad; en buen estado de salud, con adecuada alimentación y agua *ad libitum*

Todos los ratones procedentes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud - Lima (Anexo N°02), fueron adquiridos con una semana de anticipación para su adecuación y ambientación.

3.4.1. Fármaco de referencia. Polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos 1% (Dermaclin Plus®, 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 que aplicado tópicamente sobre la piel o submucosa 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.

3.5. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.5.1. Procedimiento para la recolección de la muestra

Se recolectó las ramas con hojas tiernas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" del distrito de Quinua en horas de la mañana (08:00 a.m.). Seleccionando las hojas en buen estado no dañadas, ni maltratadas (Anexo N° 05). Colocados en bolsas de polietileno; luego se realizó el lavado con abundante agua. Finalmente fueron llevados al laboratorio para su respectivo tratamiento.

3.5.2. Preparación del extracto hidroalcohólico

Las muestras fueron secadas en sombra, durante 15 días, cambiando de papel cada 24 horas y removiendo el vegetal para evitar su descomposición. Una

cantidad de 400 gramos de muestra seca y molida se maceró en frascos de color ámbar por una semana aproximadamente en alcohol 80% (1600 mL de etanol); éste cubrió a la muestra por encima de 4 cm de diferencia. Durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra y luego se filtró el residuo.

El filtrado se concentró a presión reducida hasta la eliminación del solvente, en el rota vapor obteniéndose el extracto seco (Anexo N°06).

3.5.3. Identificación de metabolitos secundarios

Las reacciones de coloración y precipitación para identificar los diferentes metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico, se realizaron siguiendo los procedimientos descritos por (Miranda, 2000) (Anexo N°04).

3.5.4. Preparación de las concentraciones

Los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F) Pers. "yana taya" al 0,5%, 1% y 2% se incorporaron en una base (Anexo N°10).

3.5.5. Determinación del efecto cicatrizante

Modelo experimental. El modelo que se usó fue propuesto por Howes y Col. (1929), citado por Arroyo y Col. (2004), que se basa en el fundamento del test de cicatrización.

Fundamento del Test de cicatrización. Es la medida de la fuerza de tensión ejercida y necesaria para abrir una herida incisa de 1 cm. de largo, realizada en el tercio superior del lomo del ratón (Anexo N°12).

Procedimiento experimental:

- Se depiló el lomo del ratón, en un área aproximada de dos centímetros cuadrados.

- Se pesó a los ratones, se marcó, fueron colocados en jaulas individualés con alimento y agua.
- Se anestesió con halatal (pentobarbital sódico) con 75 mg/kg de peso.
- Se realizó una incisión de 1 cm de largo en el lomo del ratón. Previamente se desinfectó.
- Se afrontó los bordes de la herida mediante un punto de sutura de nudo triple con seda negra en la parte central.
- Se aplicó la primera dosis del tratamiento a cada unidad experimental, administrando por vía tópica, y se repitió cada 8 horas, por un periodo de 3 días.
- Pasado los 3 días se procedió a sacrificar al ratón con una sobredosis de halatal.
- 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.
- Se dejó caer el líquido contenido en la bureta al vaso hasta que se genere la tensión suficiente para abrir 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 de la siguiente manera:

$$\% A = \frac{X_{tt0} - X_0}{X_0} \times 100$$

Donde:

% A : Porcentaje de actividad cicatrizante.

X_{tt} : Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado.

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

3.5.6. Diseño experimental:

Las concentraciones elaboradas fueron sometidas a la actividad cicatrizante, los animales de experimentación se dividieron de manera aleatoria en cinco grupos cada uno cinco repeticiones para cada grupo:

- **Grupo I** : Blanco, crema base sin la especie vegetal en estudio.
- **Grupo II** : Estándar, Dermaclin Plus®
- **Grupo III** : Extracto hidroalcohólico de hojas al 0,5% de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya".
- **Grupo IV** : Extracto hidroalcohólico de hojas al 1% de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya".
- **Grupo V** : Extracto hidroalcohólico de hojas al 2% de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers."yana taya".

3.6. Determinación de toxicidad aguda por el método de dosis límite

Los animales estuvieron en ayunas 3 - 4 horas antes de la administración. La sustancia experimental fue administrada en una sola dosis 2000 mg/kg. Dosis de acuerdo al peso por vía oral, usando una cánula adecuada. Terminada la dosificación se volvió a colocar la comida 2 horas después.

Se observaron a los animales individualmente, después de la dosificación con atención especial durante las primeras 4 horas, periódicamente durante las primeras 24 horas y después diariamente, hasta un total de 14 días.

Los pesos individuales de los animales, se determinaron antes de administrar la sustancia experimental, a los 7 días y 14 días para comparar la variación de peso.

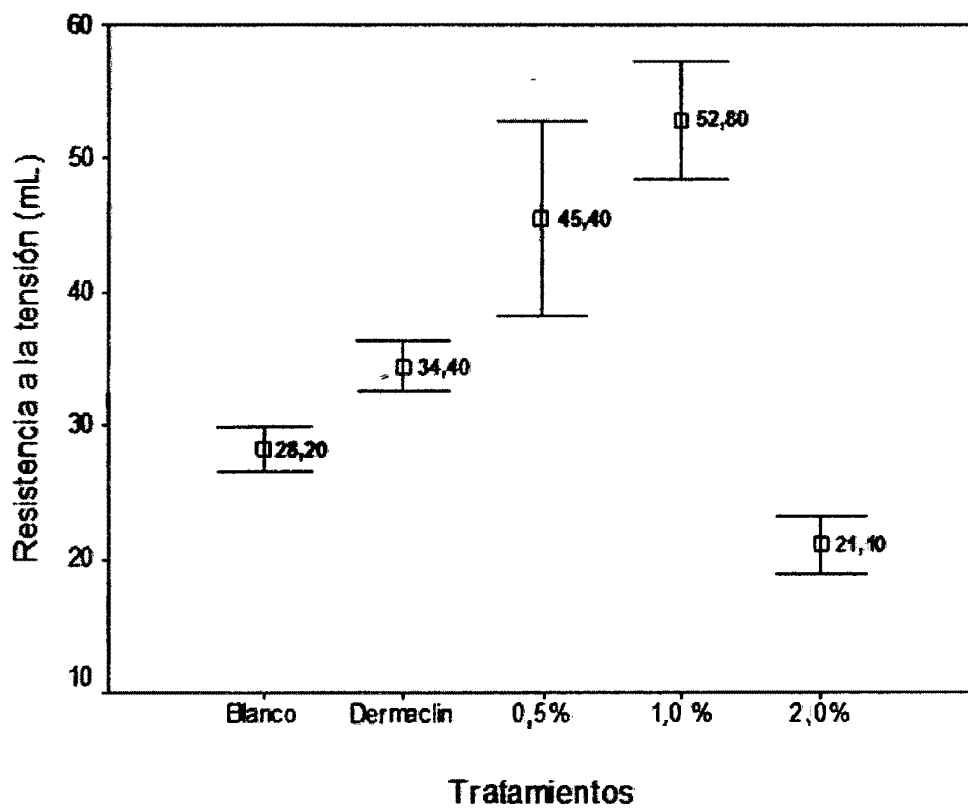
3.7. Análisis estadístico

Los resultados se expresan en cuadros y gráficos. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos fue evaluada a través del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05, las comparaciones entre cada tratamiento a través de la Prueba de Tukey mediante el programa SPSS versión 15.0.

IV. RESULTADOS

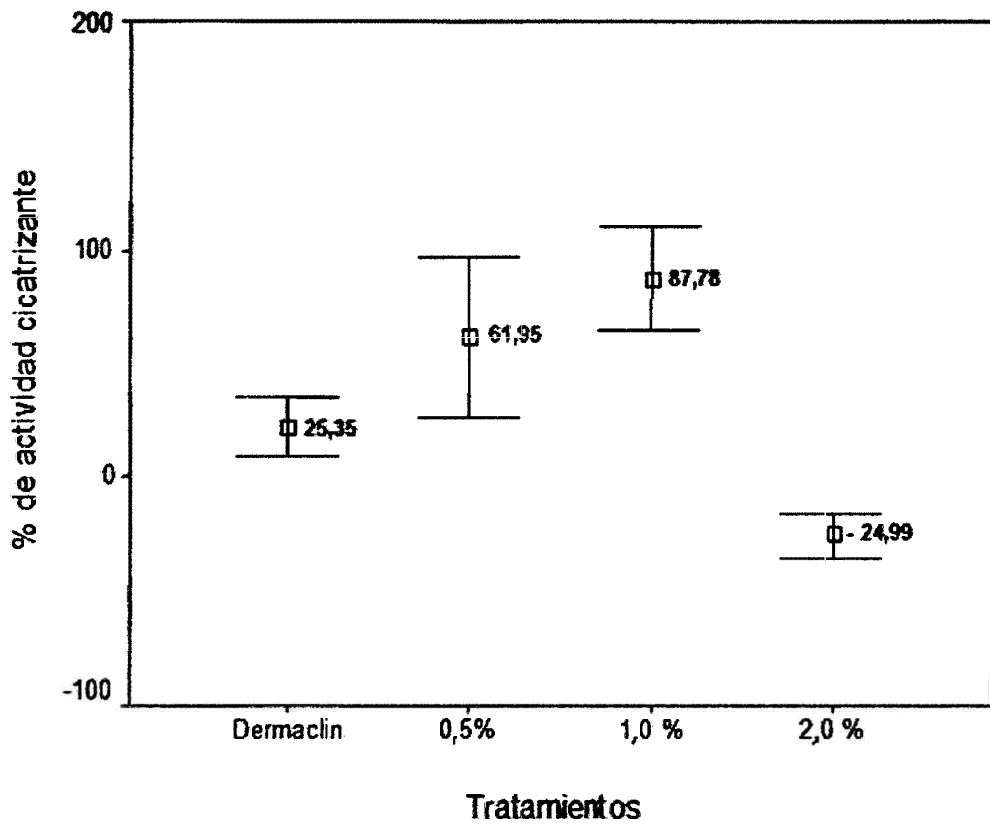
Cuadro N°01: Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya"

Metabolitos secundarios	Prueba	Resultados
Fenoles y/o taninos	FeCl ₃	Precipitado verde intenso
Flavonoides	Shinoda	Color rojo magenta
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann Burchard	Anillo pardo (verde intenso)
Catequinas	Catequinas	Verde carmelita
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	Coloración rojiza
Resinas	Resinas	Precipitado lechoso



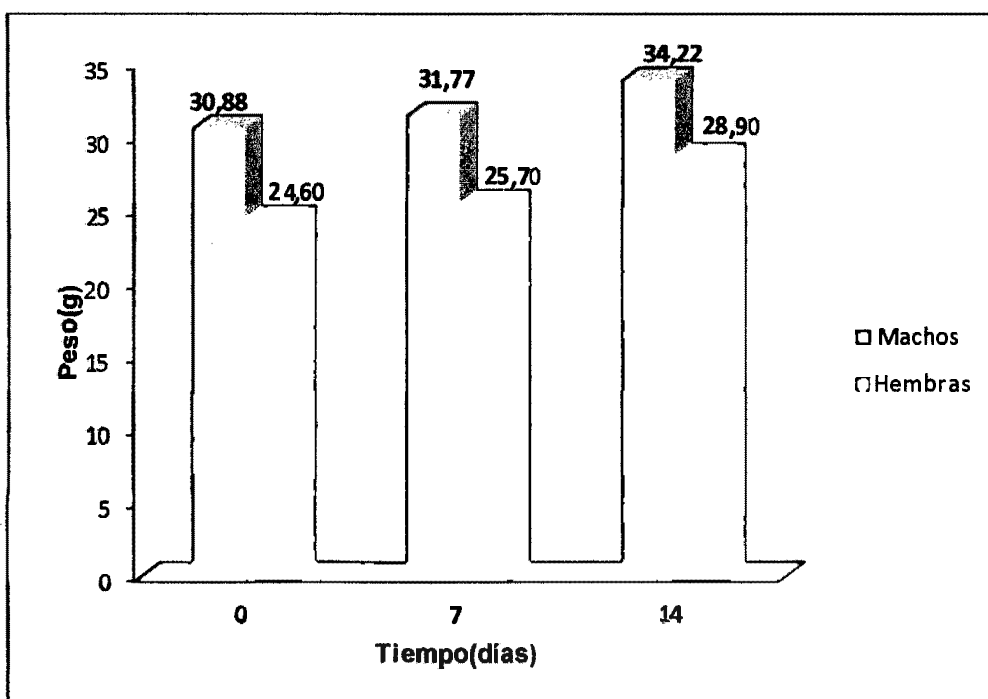
ANOVA: $p < 0,05$

GRÁFICO N° 01: Promedio de resistencia a la tensión en mililitros de los tratamientos. Ayacucho - 2012.



ANOVA: $p < 0,05$

GRÁFICO Nº 02: Porcentaje de actividad cicatrizante de los tratamientos.
Ayacucho - 2012.



ANOVA: $p < 0,05$

GRÁFICO Nº 03: Variación de peso según los días en la evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya". Ayacucho - 2012.

V. DISCUSIÓN

Las plantas medicinales han constituido desde tiempos remotos un recurso para cubrir las necesidades terapéuticas. Hoy en día su estudio se ha convertido en un hecho científico universal que trasciende no sólo en beneficio de la salud, sino que también en el sistema productivo y económico de un país (Muñoz y Col., 2004).

Nuestro país que tiene una amplia biodiversidad de flora silvestre en todo su territorio y diversidad de variedades de plantas, los cuales suelen ser utilizadas en tratamientos medicinales; y que aún faltan por estudiar ya que sólo tienen conocimientos por tradición los diferentes grupos étnicos.

En nuestro medio la *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. es utilizada para el tratamiento de enfermedades estomacales, dermatológicas y como cicatrizante de heridas (Peña y Col., 1998) y en desinfección de heridas (Freire y Col., 2007). Basándose en la medicina tradicional es necesario investigar y demostrar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" y así contribuir en la sociedad con el sustento científico para el uso adecuado de los mismos.

Un gran porcentaje de los principios activos de plantas está comprendido dentro de los llamados productos naturales o metabolitos secundarios que son compuestos químicos de estructuras relativamente complejas y de distribución

más restringida y más característica de fuentes botánicas específicas, que los llamados metabolitos primarios. De los primeros, productos naturales o metabolitos secundarios podemos decir que son indispensables en las plantas en la cual ellos intervienen y son considerados artículos de lujo en la planta (Lock, 2009). Es por esto que en el presente trabajo de investigación se realizó la determinación cualitativa de metabolitos secundarios mediante la marcha fitoquímica, para lo cual se realizó una extracción con un disolvente hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya". Se empleó este disolvente porque extrae la mayor diversidad de componentes químicos presente en la muestra vegetal (Miranda, 2000).

En el cuadro N°01 se presenta a los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. (Anexo N°07), donde se observa la presencia de compuestos fenólicos (Flavonoides, taninos condensados), compuestos triterpénicos y/o esteroides, resinas, catequinas corroborando dichos metabolitos realizado por Rojas (2009). Al realizar la prueba de $FeCl_3$, produjo la aparición de una coloración verde intensa, lo que señala la presencia de taninos condensados; corroborados por Lock (1994). La principal acción y uso de los taninos es como astringentes, debido a su capacidad para precipitar proteínas de la piel (curtido de la piel), por sus propiedades astringentes se usan por vía externa como cicatrizante (Kuklinski, 2000).

Al realizar la prueba de Shinoda se observó el desarrollo inmediato de la coloración rojo magenta. Lock (1994) refiere que dicha coloración es indicativo de la presencia de una flavanona y Gonzaga y Col. (2005) señalan que la flavanona identificada como la 5,4-OH-7-oMe flavanona llamada sakuranetina (Anexo N°13). Estudios realizados sobre la especie *Baccharis* menciona la

existencia de flavonoides, diterpenos, triterpenos, siendo nitidamente observado mayor acúmulo de flavona, flavanona (Gonzaga y Col., 2005). Así mismo, se corroboró la presencia de flavonoides por ensayo cromatográfico (Anexo N°09).

La especie *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" posee un diterpeno tipo clerodano (Eiichi, 1977), también la especie *Croton Lechleri* "sangre de grado" posee dicho diterpeno; que se usa y ha sido demostrado que cicatriza heridas (Salatino y Col., 2007).

Cárdenas (2006) hace referencia que Arroyo reporta la asociación de *Baccharis Genistelloides* (Carqueja), *Lavareta asurgentiflora* (Malva) y *Psolarea glandulosa* (Culen), mencionando que la presencia de flavonoides participan en el rol regenerativo del epitelio y su importante capacidad de intensificar la proliferación de vasos sanguíneos.

La presencia de flavonoides, catequinas y taninos, posiblemente confieren la propiedad cicatrizante a esta especie, por tener la capacidad de regenerar los tejidos que favorecen la cicatrización de heridas (Quispe, 2010).

El conocimiento del proceso biológico de la curación de las heridas es esencial, pues su tratamiento, será eficaz si no interfiere en su desarrollo natural, que tiende a la recuperación a medida que lo ayude en sus sucesivas etapas. El gran problema ha sido conocer la manera de tratarlas correctamente para acelerar su cicatrización ya que mientras más rápido lo hacen, disminuyen las complicaciones y molestias para el paciente (Hinostroza, 2009).

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 (Redrobán, 2012).

La curación de heridas continúa en una fase inflamatoria inicial seguida de la proliferación de fibroblastos, el tejido de granulación de la herida está compuesta principalmente de fibroblastos, colágeno, edema y vasos sanguíneos pequeños. El colágeno compuesto de ácido amino (hidroxiprolina) es el componente principal del tejido extracelular, que da fuerza y apoyo. Los flavonoides son conocidos para reducir los lípidos, no sólo por prevenir o retrasar la aparición de necrosis celular sino también mejora la vascularización. De ahí que cualquier fármaco que inhiba la peroxidación de lípidos se cree que aumenta la viabilidad de las fibrillas de colágeno mediante el aumento de la resistencia de las fibras de colágeno, el aumento de la circulación, evitando el daño celular y mediante la promoción de la síntesis de ADN (Ambiga y Col., 2007). Los taninos, flavonoides y triterpenos son conocidos por promover el proceso de cicatrización de heridas debido a su actividad astringente y antimicrobiano, que es responsable de la contracción de la herida y más rápido período epitelización por lo tanto, la curación de la herida puede ser mejorada debido a la acción de barrido de radicales libres (Saroja y Col., 2012).

La absorción percutánea de medicamentos es un proceso complejo, pero se puede generalizar mencionando que hay una mayor absorción cuando se aplica a un área superficial más grande, existen formulaciones y excipientes que aumentan la hidratación de la piel, mayor cantidad de frotamiento (Mendoza, 2008) La administración del extracto por vía tópica se usó en forma de una

crema con la finalidad de hidratar el estrato córneo y así aumentar la penetración del extracto así mismo la base contiene excipientes que refuerzan la absorción percutánea como el alcohol cetílico.

Díaz (2007), Pillaca (2008) y Hinojosa (2009) utilizaron el Cicatrin® (estándar) por ser éste un antibiótico con actividad bactericida. El estándar usado en la presente investigación, fue el Dermacilin 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 Dermacilin Plus® contiene polifenoles cuaternarios derivados de los bioflavonoides cítricos que le dan dicho efecto.

En el Gráfico N°01, se observa el promedio de resistencia a la tensión en mililitros necesario para abrir la herida por efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya", cuyos valores promedios en las heridas tratadas son: blanco con 28,20 mL de tensión, Dermacilin Plus® con 34,40 mL de tensión, extracto al 0,5% con 45,40 mL de tensión, extracto al 1% con 52,80 mL de tensión y el extracto al 2% con 21,10 mL de tensión, observándose que el extracto hidroalcohólico al 0,5% y 1% tienen el mayor volumen de tensión a diferencia del 2% que tiene un menor volumen de tensión; indicando que ciertas concentraciones son más efectivas que el estándar y demostrando además que las heridas tratadas con bajas concentraciones muestran resultados superiores en el efecto cicatrizante.

El análisis de varianza, es una prueba estadística para analizar si más de 2 grupos difieren significativamente entre sí en cuanto a sus medias y varianzas. (Hernández y Col., 2006). El nivel de significancia es un nivel de la probabilidad

de equivocarse y que fija de manera a priori el investigador. 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, 0,95 y 0,05, respectivamente ambos suman la unidad (Hernández y Col., 2006). En base a lo anterior se determinó la diferencia que existe entre los grupos de tratamiento (Anexo N°17), obteniéndose una diferencia significativa ($p < 0,05$).

La hipótesis de investigación propone que dos grupos difieren significativamente entre sí y la hipótesis nula propone que los grupos no difieren significativamente (Hernández y Col., 2006). En el Anexo N°18 podemos observar las comparaciones múltiples de los tratamientos con la prueba de Tukey para evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" donde 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 hidroalcohólicos al 0,5%, 1% y 2%, mientras que el Dermacilin Plus® (estándar) no difiere significativamente con éste, es decir, posee similar comportamiento con el blanco.

En el Gráfico N°02 se representa el porcentaje de actividad cicatrizante de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" obteniéndose mayor porcentaje de actividad cicatrizante al 1% con 87,78%, seguido del 0,5% con 61,95% y el estándar con 22,35%, mientras que al 2% presenta un - 24,99%. Lo cual se puede deber que a mayor concentración puede haber algún metabolito secundario que interfiere con la actividad de los metabolitos secundarios responsables del efecto cicatrizante. En base a lo anterior se determina que

existe la diferencia entre los grupos de tratamiento, diferencia significativa ($p < 0,05$) a un nivel de confianza del 95% (Anexo N°20). Las comparaciones múltiples de los tratamientos con la prueba de Tukey para evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado parecido existente entre sus medias: determinando que el extracto hidroalcohólico al 0,5% posee similar comportamiento con el extracto hidroalcohólico al 1%; pero éstos difieren significativamente con los demás tratamientos.

En consecuencia, la presencia de flavonoides, taninos, diterpenos en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers "yana taya" demostró tener efecto cicatrizante.

Adicionalmente se realizó la determinación de la toxicidad aguda en ratones con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya", en el cual se observó que la administración del extracto a una dosis límite de 2000 mg/kg de masa corporal no provocó muerte de ninguno de los animales del grupo tratado tampoco hubo síntomas indicativos de toxicidad, se registró una conducta normal en los animales. La masa corporal como indicador de toxicidad, se comportó dentro de los parámetros establecidos para la curva de crecimiento de la especie (Gráfico N°03). Este resultado indica que el extracto hidroalcohólico no es tóxico a la dosis estudiada, posiblemente presente toxicidad aguda a una dosis mayor a 2000 mg/kg (OECD, 2001). Las diferencias entre los tratamientos fueron estadísticamente a través del análisis de varianza (ANOVA) factorial simple (Anexo N°22) donde se observa que el extracto a dosis de 2000 mg/kg de peso no tiene efecto tóxico, ya que el peso corporal del animal aumenta con normalidad en función a los días.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" presenta efecto cicatrizante.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" presenta los siguientes metabolitos secundarios: compuestos fenólicos (flavonoides, taninos condensados), compuestos triterpénicos y/o esteroides, catequinas, resinas, lactonas y/o cumarinas.
3. El mayor efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" presenta al 1% con 87,78%.
4. La administración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya" no es tóxico a la dosis de 2000 mg/Kg.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con los estudios y comprobar otras propiedades farmacológicas atribuidas a esta especie vegetal.
2. Proseguir con el estudio del efecto cicatrizante de la *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya", aislando el metabolito o la fracción responsable de este efecto. Asimismo realizar el aislamiento y elucidación de estructuras moleculares de los metabolitos secundarios presentes en ésta.
3. Realizar estudios de formulación de presentaciones farmacéuticas semisólidas de la *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya", para su empleo como cicatrizante.
4. En futuros trabajos de investigación del efecto cicatrizante se recomienda en la parte farmacológica realizarlo en ambientes individuales para cada animal de laboratorio e impedir daños colaterales durante el ensayo.
5. Continuar con los estudios de toxicidad y genotoxicidad de la *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya".

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Ambiga, S., Narayanan, R., Durga, G., Sukumar, D., Madhavan, S.** 2007. Evaluation of Wound Healing Activity of Flavonoids From Ipomoea Camea Jack. *Ancient Science of Life*. Vol. XXVI (3).
2. **Arroyo, J., Rojas, J., Chenguayen, J.** 2004. *Manual de Modelos Experimentales de Farmacología*. Primera edición. Perú.
3. **Bruneton, J.** 1991. *Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia*. Editorial-ACRIBIA S.A. Zaragoza-España.
4. **Cárdenas A.** 1993. "Cicatrización de heridas". Editorial Melgarejo García Ingenieros Asociados. S.R.L. Perú.
5. **Cárdenas J.** 2006. Comprobación del efecto cicatrizante y antiedematizante de *Baccharis Crispa* (Carqueja), *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y *Piper angustifolium* (matico) en ratones albinos. *Revista Ciencia y Tecnología*. Vicerrectorado de Investigación. Universidad Nacional del Callao. URL: [email jcardenas@sunac.edu.pe]. Lima - Perú.
6. **Chocarro, L., Venturini, C.** 2006. *Procedimientos y cuidados en Enfermería Médico-Quirúrgica*. Editorial ELSEVIER. España.
7. **Curo, N.** 2004. Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* "yawar soqo". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú
8. **Diaz, L.** 2007. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas y raíces de *Gamochaeta americana* (Mill.) Wedd. "qeto qeto" en ratones. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
9. **Evans, W.** 1991. *Farmacognosia*. Editorial Mc. Graw-Hill Interamericana. México.
10. **Eiichi, F., Kaoru, F., Yohimitsu, N., Manabu, N.** 1977. *The Chemistry on Diterpenoids* . Univ Kyoto. Part II. Vol.56.
11. **Flores, E.** 2010. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis Genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cuchu". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.

12. **Fonnegra, R., Jimenéz, S.** 2007. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Segunda edición. Editorial Universidad de Antioquía.
13. **Freire, S., Urtubey, E., Guilano, D.** 2007. Caracteres epidérmicos de las especies del Género *Baccharis* (Asteraceae) usada en la Medicina Popular. División de Plantas Vasculares. Museo de la Planta Paseo del Bosque. Caldasia Argentina. Página disponible en URL: [www.unal.edu.co/iien/publicaciones/caldasias.htm.]
14. **Gaillardo, A., Cohen, R., Zurita, E., Saénz, A., Calebota, A., Lara, A.** 2009. Cicatrización de Heridas. Postgrado de Dermatología. Hospital universitario de Caracas. Universidad Central de Venezuela. Vol. 47, n°3- n°4,8-12.
15. **Gonzaga, L., Costa, I., Gerardo, M.** 2005. Género *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos Químicos, Económicos y Biológicos. *Quim. Nova*, Vol. 28.
16. **Guevara, L.** 2000. Plantas medicinales. Primera edición. Editorial Centro de estudios regionales andinos "Bartolomé de las casas". Cusco
17. **Hernández, R; Fernández, C y Baptista, P.** 2006. Metodología de la investigación. Cuarta edición. Editorial McGraw- Hill. México.
18. **Hinostroza, M.** 2009. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni* "estevia". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
19. **Kukliński, C.** 2000. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Primera edición. Editorial Omega S.A. España.
20. **Lock, O.** 1994. Investigación fitoquímica. Primera edición. Fondo Editorial. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima.
21. **Lock, O.** 2009. Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios. Pontificia Universidad Católica del Perú -Lima. [Monografía en Línea].
22. **Mendoza, F.** 2010. Efecto cicatrizante del extracto alcohólico del fruto de *Sambucus peruviana* "sauco". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho -Perú.
23. **Mendoza, M.** 2008. Actividad cicatrizante de una crema elaborada a base de la resina y del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Schinus molle* L. "molle". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.

24. **Miranda, M.** 2000. Métodos de Análisis de drogas y extractos. Universidad de la Habana. Instituto de Farmacia y alimentos. Cuba.
25. **Morales, F.** 2007. Temas prácticos de Geriatría y Gerontología. Tomo1. Primera edición. Editorial Universal Estatal a distancia. Costa Rica. URL: [http://books.google.com.pe/books[cicatrización de la piel/ book].
26. **Muñoz, O., Montes, M., Wilkomirsky, T.** 2004. Plantas medicinales de uso en Chile: Química y Farmacología. Segunda edición. Editorial Universitaria. Chile.
27. **OECD.** Organization for economic co-operation and development Guideline for Testing of Chemicals. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Test N°423. 2001: 1-14
28. **Peña, C., Ospina, L., Calle, J., Píñón, R.** 1998. Evaluación de la actividad scavenger frente a los radicales superóxido, peróxilo, e hidróxilo por parte de algunos compuestos obtenidos de plantas medicinales colombianas. Revista Colombiana de Ciencia Químico - Farmacéuticas. N°27, 41-47.
29. **Pillaca, K.** 2008. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las flores y hojas de *Ligaria cuneifolia* "Tullma". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
30. **Quispe, M.** 2010. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Junglia paniculata* (DC) A. Gray "matico de puna". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
31. **Quesada, A.** 2008. las Plantas Medicinales. Revista de Biocenosis. Museo Nacional de Costa Rica. Vol 21(1-2).
32. **Ramírez, G.** 2010. Fisiología de la cicatrización cutánea. Revista Facultad de Salud. Universidad Surcolombiana. Neiva-Huila. Vol. 2. N°2: 68-78. URL: [email Alfredo heridas@hotmail.com].
33. **Redrobán, K.** 2012. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Berro (*Nasturtium officinali*) y llantén (*Plántago major*) en ratones. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba- Ecuador.
34. **Ríos, L.** 1990. Métodos Farmacológicos en la investigación de Productos Vegetales. Primera edición. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Marcos. Lima - Perú.

35. **Rojas, F.** 2009. Determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Baccharis tricuneata* "yana taya" en ratas albinas. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
36. **Romero, M., Magallanes. C., De la Cruz. J., Villegas. L.** 2006. Evaluación de las plantas medicinales con propiedades antioxidantes de los distritos de Ayacucho, Carmen Alto y Quinoa de la Provincia de Huamanga - Ayacucho.
37. **Salatino, A., Faria, M., Negri, G.** 2007. Traditional uses, Chemistry and Farmacology of Croton Species (Euphorblaceae). *Sociedad Brasileira de Química*. Vol.18 N°.1, 11-33.
38. **Saroja, M., Santi, R., Annapoorani, S.** 2012. Wound Healing Activity of Flavonoid Fraction of *Cinodon dactylon* in Swiss Albino Mice. *International Research Journal of Pharmacy*. URL: [email sarojam2011@gmail.com]
India.
39. **Villar del Fresno, A.** 1999. Farmacognosia General. Proyecto Editorial-Síntesis Farmacia. Editorial Síntesis S.A Madrid.

ANEXOS

ANEXO Nº 01: Clasificación botánica de la *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers.



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. Madaleyne, GARCÍA LEÓN, 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	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO.	:	Baccharis
ESPECIE	:	<i>Baccharis tricuneata</i> (L.F.) Pers..
N.V.	:	"yana taya"

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

Ayacucho, 14 de Agosto del 2012

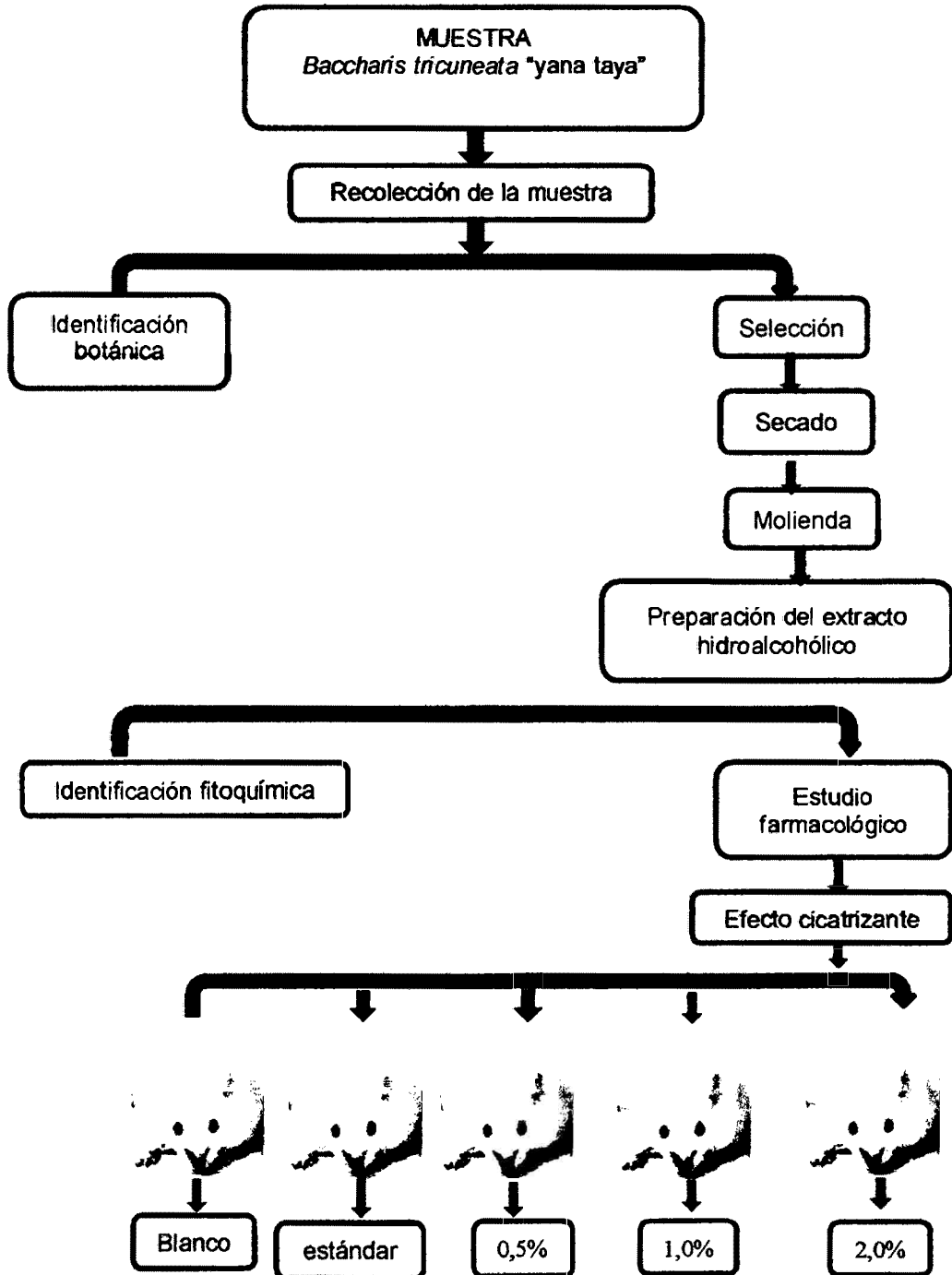
Dr. Leonidas S. S. S.

ANEXO Nº 02: Certificado sanitario de los animales de experimentación.

<p>INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS BIOTERIO</p>	
	<p>CERTIFICADO SANITARIO Nº 244-2012</p>
<p>Producto : Ratón albino</p>	<p>Cepa : Balb/c/CNPB</p>
<p>Especie : <u>Mus musculus</u></p>	
<p>Lote Nº : M-38-2012</p>	
<p>Peso : 15 a 24 gr. (25 a 32 días)</p>	<p>Cantidad : 12 (hembras) 47 (machos)</p>
<p>G.R. : 26419</p>	
<p>Fecha : 14.09.2012</p>	<p>Destino : García León, Madeleyne Ayacucho</p>
<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: PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el Ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para animales de experimentación.</p>	
<p>Chorrillos, 17 de Septiembre del 2012 (fecha de entrega)</p>	<p> M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586 Coordinador de Bioterio</p>
<p>NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>	

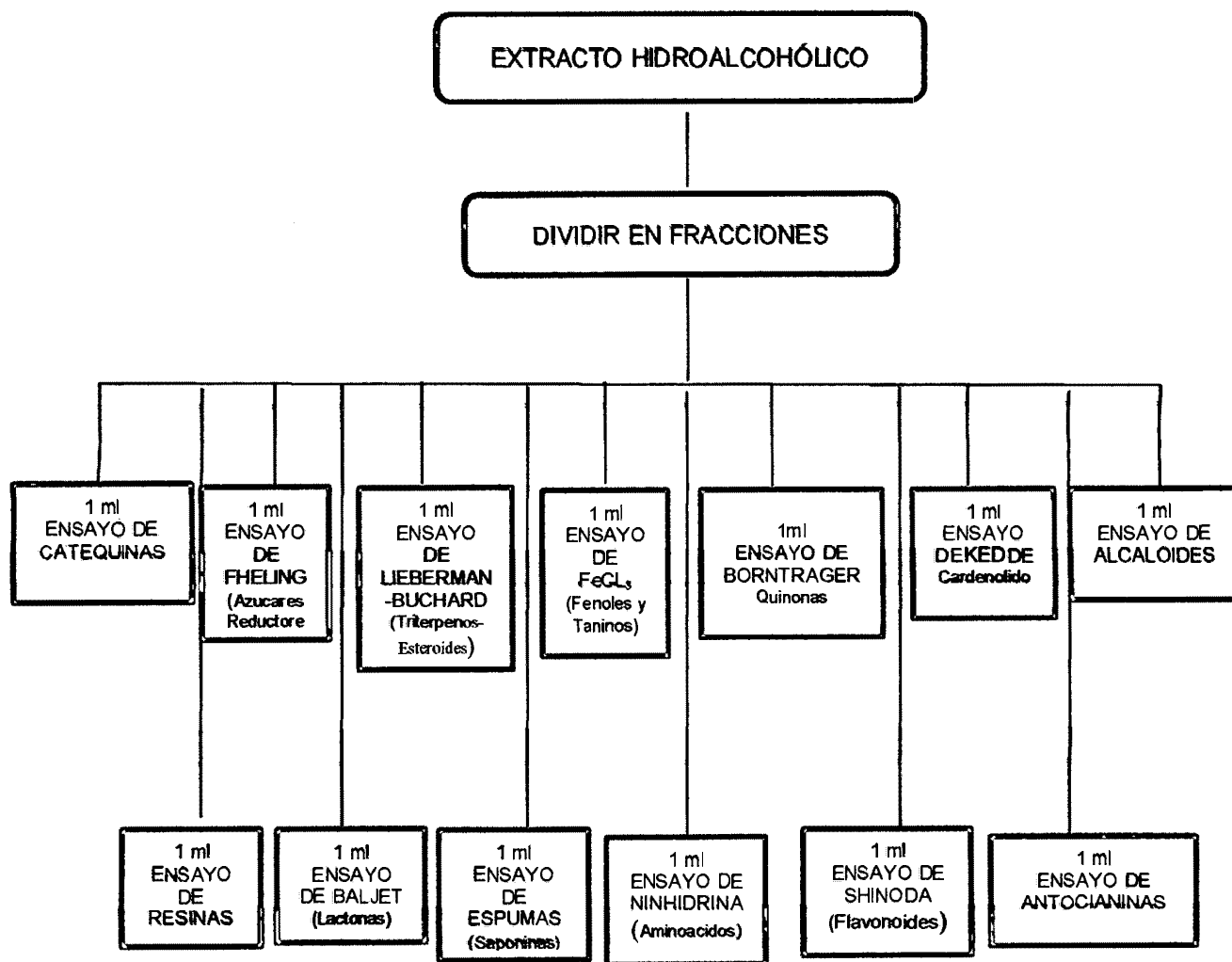
ANEXON°03

Protocolo de procedimiento metodológico de la especie *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya".



ANEXO N°04

Esquema de las reacciones realizadas en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya"



ANEXO N°05

Hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. “yana taya”.



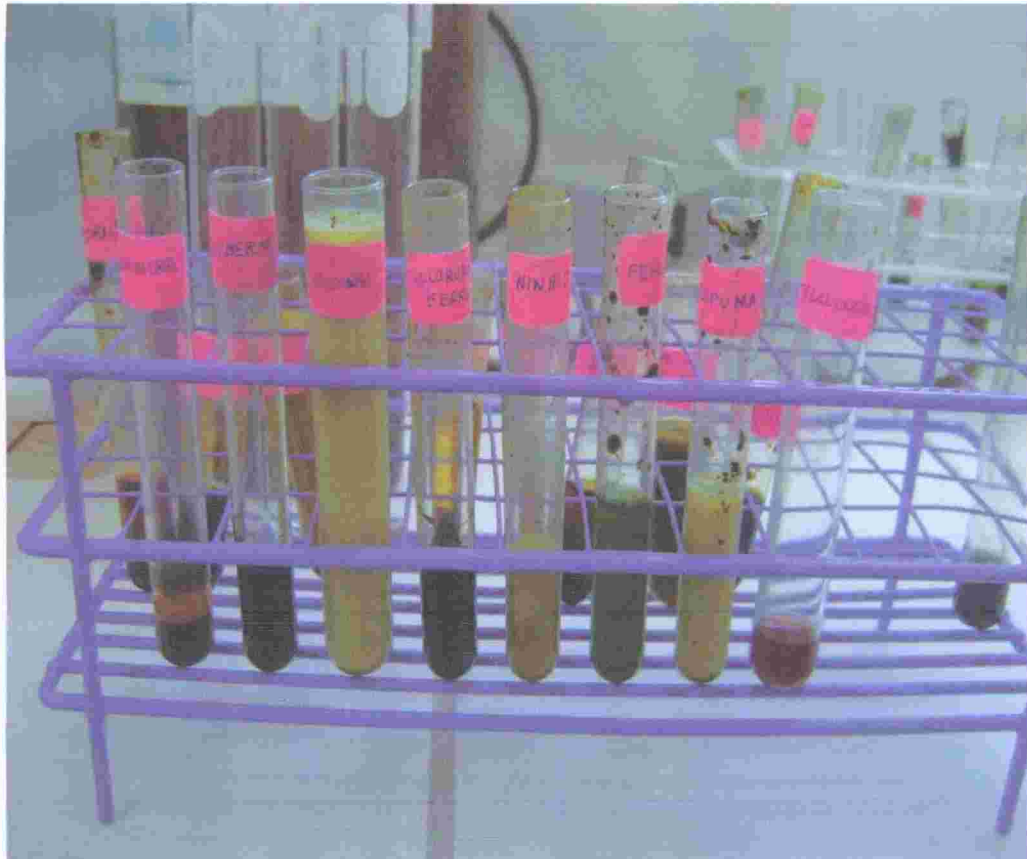
ANEXO N°06

**Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers.
"yana taya".**



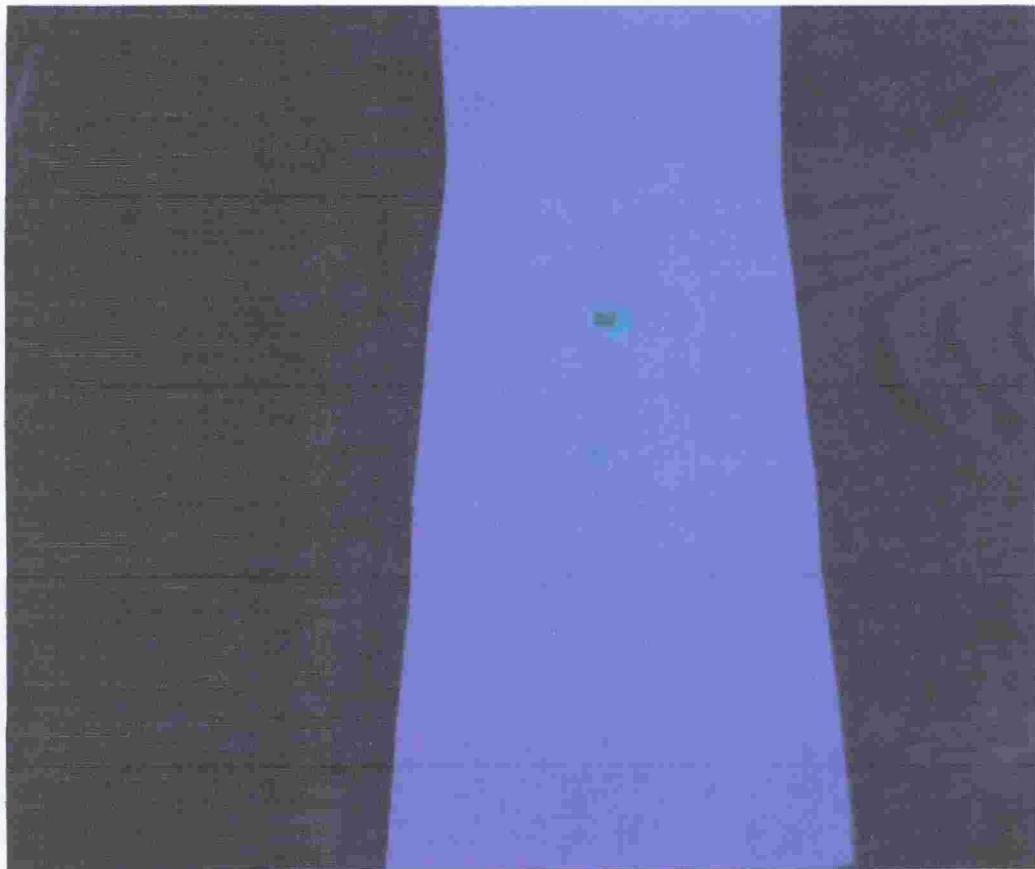
ANEXO N°07

Tubos de identificación de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. “yana taya”.



ANEXO N°08

Cromatografía de catequinas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya".



ANEXO N°09

Cromatografía de flavonoides del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. "yana taya".



ANEXO N°10

**Base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata*
(L. F.) Pers. "yana taya".**



ANEXO N°11

Cremas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata*
(L. F.) Pers. "yana taya" al 0,5%, 1% y 2%.



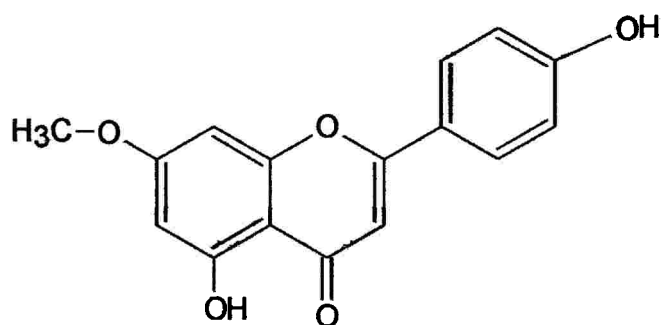
ANEXON°12

Determinación del volumen de tensión al evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. “yana taya”.



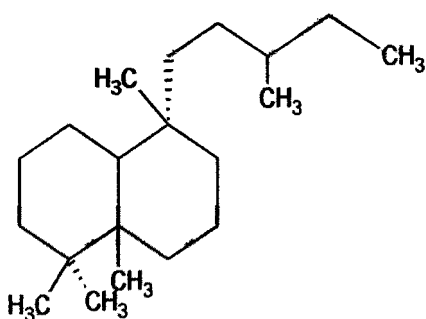
ANEXON°13

Estructura química denominada Sakuranetina (Gonzaga y Col., 2005)

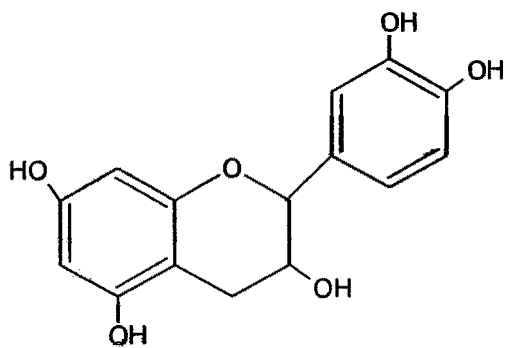


ANEXO N°14

Estructura química de un clerodano



Estructura química de un tanino



ANEXO N° 15

Valores de resistencia del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. y los controles. Ayacucho - 2012.

Blanco	Estándar Dermaclin Plus®	Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis tricuneata</i> (L. F.) "yana taya"		
		0,5%	1,0%	2,0%
27	36	52	54	20
29	32	38	50	20
28	35	46	49	20
30	34	41	53	22
27	35	50	58	24

ANEXO N°16

Valores descriptivos de la resistencia del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. y los controles. Ayacucho - 2012.

Descriptivos

	N	Media	Desviación Típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
Resistencia tratamiento a la tensión (mL)	Blanco	5	28,2000	1,3038	,5831	26,5811	29,8189	27,00	30,00
	Dermaclin	5	34,4000	1,5166	,6782	32,5170	36,2830	32,00	36,00
	0,5 %	5	45,4000	5,8992	2,6382	38,0754	52,7246	38,00	52,00
	1,0%	5	52,8000	3,5637	1,5937	48,3751	57,2249	49,00	58,00
	2,0%	5	21,1000	1,7464	0,7810	18,9316	23,2684	20,00	24,00
	Total	25	38,3800	12,0669	2,4134	31,3990	41,3610	20,00	58,00

ANEXO N°17

Análisis de varianza de la resistencia del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. y los controles. Ayacucho -2012.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Resistencia Inter-grupos	3276, 440	4	819, 110	75,079	,000
a la tensión Intra-grupos	218, 200	20	10,910		
(mL) Total	3494, 640	24			

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

ANEXO N°18

Resultados de las comparaciones múltiples de Prueba Tukey del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. y los controles. Ayacucho -2012.

Resistencia a la tensión (mL)

HSD de Tukey ^a					
Tratamientos	N	Subset for alpha= ,05			
		1	2	3	4
2,0%	5	21, 1000			
Blanco	5		28, 2000		
Dermaclin	5		34, 4000		
0,5%	5			45, 4000	
1,0%	5				52, 8000
Sig.		1, 000	, 053	1, 000	1, 000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size= 5, 000

ANEXO N°19

Valores del porcentaje de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. y los controles. Ayacucho -2012.

Estándar Dermaclín Plus®	Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis tricuneata</i> (L. F.) "yana taya"		
	0,5%	1,0%	2,0%
33,33	92,59	100,00	-25,93
10,34	31,03	72,41	-31,03
25,00	64,29	75,00	-28,33
13,33	36,67	76,67	-11,11
29,63	85,19	114,81	-25,93

ANEXON° 20

Cuadro N°07: Análisis de varianza del porcentaje de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. y los controles. Ayacucho - 2012.

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
% actividad cicatrizante Inter-grupos	36294, 467	3	12098, 156	37, 630	,000
Intra-grupos	5144, 093	16	321, 506		
Total	41438, 560	19			

ANEXO N°21

Resultados de las comparaciones múltiples de prueba Tukey del porcentaje de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* (L. F.) Pers. y los controles. Ayacucho - 2012.

% de actividad cicatrizante

HSD de Tukey^a

		Subset for alpha= .05		
Tratamientos	N	1	2	3
2,0%	5	24, 9940		
Demaclin	5		22, 3460	
0,5%	5			61, 540
1,0%	5			87, 7780
Sig.		1, 000	1, 000	, 145

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size= 5, 000

ANEXO N°22

Análisis de varianza de factorial simple en el ensayo de toxicidad aguda por el efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis trícuneata* (L. F.) Pers. Ayacucho - 2012.

ANOVA^{a,b}

			Método Único				
			Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	Sig
Peso (g)	Covariables	Tiempo (días)	144,400	1	144,400	9,688	,003
	Efectos principales		504,600	1	504,600	33,854	,000
	Modelo		649,000	2	324,500	21,771	,000
	Residual		849,600	57	14,905		
	Total		1498,600	59	25,400		

- a. Peso (g) por sexo con tiempo (días)
- b. Todos los efectos introducidos simultáneamente