

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de  
las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum*  
“conoca”. Ayacucho, 2016.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

Presentado por:  
**Bach. QUISPE GÓMEZ, Ronald**

Ayacucho – Perú  
2017



A Dios, a mi madre por su incondicional apoyo que siempre seré muy agradecido y a mi familia.



## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales idóneos para el desarrollo de la humanidad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica por acogerme en sus aulas y a los profesores quienes con sus conocimientos me formaron y guiaron mi formación profesional.

Al Q.F. Johnny Aldo, Tinco Jayo, por su asesoría y conducción en el presente trabajo.

Al Q.F. Marco, Arones Jara, por su colaboración y acompañamiento permanente.

Al Q.F. Juan Clímaco, Paniagua Segovia por su colaboración incondicional.

Al todas las personas que estimularon en todo momento el desarrollo de este trabajo.



## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> “conoca”	3
2.2. Composición química	5
2.3. La herida	5
2.4. Fisiología de la cicatrización	6
2.5. Principales metabolitos secundarios que participan en la cicatrización	6
III. MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1. Ubicación	11
3.2. Población y muestra	11
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	11
3.4. Obtención del extracto hidroalcohólico	11
3.5. Tamizaje fitoquímico	12
3.6. Caracterización del extracto	12
3.7. Diseño de investigación	12
3.8. Análisis estadístico	13
IV. RESULTADOS	15
V. DISCUSIÓN	21
VI. CONCLUSIONES	25
VII. RECOMENDACIONES	27
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
ANEXO	33





## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Diseño experimental para la evaluación del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca". Ayacucho, 2016.	13
Tabla 2. Porcentaje de cenizas totales y contenido de humedad en la muestra vegetal de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> .	16
Tabla 3. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum Dactylophyllum</i> .	17
Tabla 4. Principales metabolitos secundarios identificados cualitativamente en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca". Ayacucho, 2016.	18



## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Fisiología de la cicatrización	6
Figura 2. Volúmenes de agua en mL como fuerza de tensión ejercida para abrir las heridas en proceso de cicatrización por efecto de los tratamientos experimentales. Ayacucho, 2016.	19
Figura 3. Porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> “conoca” en ratones albinos. Ayacucho, 2016.	20



## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de la clasificación taxonómica de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i>	34
Anexo 2. Ejemplar de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> en su hábitat natural.	35
Anexo 3. Tallos y hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i>	36
Anexo 4. Extracción y concentrado del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> .	37
Anexo 5. Reacciones de identificación cualitativa de metabolitos secundarios en el del extracto hidroalcohólico de las hojas de hojas <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> .	38
Anexo 6. Incerto del medicamento de referencia (dermaclin plus 1%).	39
Anexo 7. Cenizas y muestra desecada de las hojas y tallos de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> .	40
Anexo 8. Test de cicatrización en ratones albinos	41
Anexo 9. Análisis de la varianza (ANOVA) de la fuerza de tensión expresado como mL de agua, en la evaluación del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> .	42
Anexo 10. Análisis de las medias para los grupos en los Sub conjuntos homogéneos.	43
Anexo 11. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la fuerza de tensión expresado como mL de agua, en la evaluación del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> .	44
Anexo 12. Matriz de consistencia	45



## RESUMEN

La búsqueda de drogas bioactivas de origen vegetal en el tratamiento de heridas dérmicas eficaces y mejor toleradas, representan una buena alternativa en la terapéutica de dicha entidad. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca” en ratones albinos, realizado en los laboratorios de Farmacología y Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante el mes de mayo de 2016. La muestra fue colectada en el distrito de Paras, provincia de Cangallo, Departamento de Ayacucho. El efecto cicatrizante se determinó mediante el método tensiométrico propuesto por Howes y col. Se formó aleatoriamente cinco grupos de seis animales cada uno a los que se administró extractos a dosis de 1, 2 y 4% en geles de carboximetilcelulosa como vehículo, un control positivo, Dermaclín Plus y un control negativo, sólo vehículo. La identificación fitoquímica cualitativa dio positivo para catequinas, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos y taninos, flavonoides, alcaloides, compuestos oxidables y triterpenoides. Los porcentajes de efecto cicatrizante obtenidos a la concentración de 1% fue de 34,20%; al 4%, 55,32% y al 2%, 53,14%. Las concentraciones de 2 y 4% mostraron ser estadísticamente similares al estándar Dermaclín Plus ( $p > 0,05$ ) que mostró 55,56% de efecto cicatrizante. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca” poseen efecto cicatrizante importante por lo que representa una buena alternativa en la curación de heridas.

**Palabras clave:** *Xenophyllum dactylophyllum*, “conoca”, efecto cicatrizante, extracto hidroalcohólico.





## I. INTRODUCCIÓN

El tratamiento de heridas se sustenta muchas veces en el uso tradicional de preparados a base de plantas medicinales en nuestro país. De hecho, actualmente, muchos sistemas de salud de América, Asia y Europa frecuentemente hacen uso de drogas vegetales y fitomedicamentos como parte integral de la medicina convencional.<sup>1</sup> Esta práctica, sin embargo, no es reciente, la historia ha documentado, por ejemplo, que el hombre de Neandertal en Irak 60000 años a.C. usaba hierbas contra las quemaduras. En el antiguo Egipto ya se usaban como apósitos el barro, gomas, resinas, miel, mirra y sustancias oleosas e Hipócrates trataba las heridas con vino, cera de abejas, roble sagrado, aceite y azúcar.<sup>2</sup>

Actualmente, las investigaciones farmacológicas buscan moléculas cuya bioactividad se oriente a la reparación efectiva de lesiones tisulares como las heridas. Una herida es una solución de la continuidad normal de los tejidos, mientras que el poder de autorreparación que tienen todos los seres vivos se denomina cicatrización<sup>3</sup>, tema en torno al cual gira este informe de investigación. Muchas especies vegetales con potencial cicatrizante han sido motivo de estudio hasta la fecha, unos a partir de su perfil fitoquímico y la mayoría, como en este caso, a partir de información etnomédica.

Se trata de *Xenophyllum dactylophyllum* conocido popularmente como “conoca”, una especie de uso en la medicina tradicional en las regiones altoandinas de nuestra región. Existen, además, evidencias en la literatura de que esta especie posee múltiples propiedades medicinales dentro de las que se encuentra la curación de heridas.<sup>4</sup>

Este trabajo expone los procedimientos experimentales de la evaluación del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* en ratones albinos, así como la identificación de metabolitos secundarios presentes y algunas características fisicoquímicas elementales del

extracto. Se expone también los resultados experimentales que demuestran la bioactividad del extracto sobre la reparación tisular cuantitativamente similar al fármaco de referencia.

Cabe destacar que este trabajo se desarrolló en los laboratorios de Farmacognosia y Farmacología de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en la Ciudad de Ayacucho, Perú. Cada etapa del trabajo se ha desarrollado en base a procedimientos y protocolos estandarizados de laboratorio de tal forma que los resultados reflejan la confiabilidad del experimento.

Por lo que se plantearon los siguientes objetivos

- Evaluar los parámetros fisicoquímicos de las hojas de *xenophyllum dactylophyllum* “conoca”.
- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *xenophyllum dactylophyllum* “conoca”.
- Evaluar y Comparar el porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum Dactylophyllum* “conoca” con un estandar de referencia, Dermaclin Plus (Polifenoles Cuaternarios Derivados de Bioflavonoides Cítricos).

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de estudio

En un estudio de gran importancia cuyo objetivo fue evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de 40 plantas de uso común en la medicina tradicional peruana, se demostró que *Xenophyllum dactylophyllum* a la concentración de 50µg/ml posee poder antioxidante de 64,50%.<sup>10</sup>

Se ha demostrado que *Xenophyllum dactylophyllum* posee actividad biológica al producir efecto antihipertensivo que según los autores se debió a escopoletina (7-hidroxi-6-metoxi-cumarina), y también posee actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Neurospora crassa*.<sup>4</sup>

Así mismo, en otro estudio, se menciona que las especies congéneres *Xenophyllum poposum* y *Xenophyllum incisum* poseen actividad antimicrobiana en vista de su contenido de una acetofenona prenilada, 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil) (4-H-3-(MB) AP).<sup>11</sup>

Respecto a los estudios experimentales empleando plantas con actividad cicatrizantes, en la literatura existen numerosos, por lo que cabe destacar algunos trabajos publicados este año, tanto dentro como fuera de nuestro medio. Se ha evaluado la actividad cicatrizante de los extractos de “bolsa de pastor” (*Capsella bursa-pastoris*) mediante el test de heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*).<sup>12</sup> Así mismo, se evaluó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de “mastuerzo” (*Tropaeolum majus*) a diferentes concentraciones en heridas inducidas en ratones.<sup>13</sup>

Otro estudio, realizado en nuestro país, evaluó el nivel de cicatrización histopatológica del Matico (*Piper angustifolium*) dentro de los alveolos post exodoncia.<sup>14</sup>

## **2.2. *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca”**

### **2.2.1. Descripción botánica de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca”**

El género *Xenophyllum*, que consta de 21 especies, fue extraído del género *Werneria*. Son plantas rizomatosas perennes, de hojas persistentes, cubiertas y dispuestas en espiral, con flores del disco hermafroditas de color amarillo o blanco y estilo amarillo o rojo; que crecen a 3000-5200 metros de altitud<sup>5</sup> distribuidas en Argentina, Bolivia, Colombia, Chile, Ecuador, Perú y Venezuela.<sup>4</sup> Estos subarbustos pigmeos de capítulos blancos crecen en las laderas altoandinas subnivales<sup>6</sup>, especialmente en los suelos crioturbados.<sup>7</sup>

### **2.2.2. Clasificación taxonómica**

*Xenophyllum dactylophyllum* (Schultz Bipontinus) VA Funk, antiguamente fue clasificada como *Werneria dactylophylla* y es conocida vernacularmente como “pupusa”. Según la literatura, el género *Werneria* fue dividido en dos géneros *Werneria* y *Xenophyllum*, de manera que hoy se usan ambos nombres genéricos, a veces, indistintamente.<sup>4</sup>

Según el Sistema de Clasificación de Cronquist A. 1988. (Anexo 1), es como sigue:

DIVISIÓN:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE:	MAGNOLIOPSIDA
Subclase:	Asteridae
ORDEN:	ASTERALES
FAMILIA:	ASTERACEAE
GÉNERO:	<i>Xenophyllum</i>
ESPECIE:	<i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (Sch. Bip) VA Funk.
Nombre vulgar:	“conoca”

**Sinonimia:** *Werneria Dactylophylla*, *Xenophyllum dactylophyllum*.

**Nombres Comunes:** conoca, pupusa.

### **2.2.3. Usos medicinales atribuidos por la medicina tradicional**

Informes etnomédicos mencionan que *Xenophyllum dactylophyllum* se emplea en el tratamiento del “soroche” y como sustituyente del mate de coca para la hipoxia de altura.<sup>4</sup>

De otro lado, también se ha descrito usos medicinales como antihemorrágico, en infusión como carminativa y estomacal.<sup>8</sup>

### 2.3. Composición química

En general la variedad química en los componentes de las especies de *Werneria* agrupa a diversos estudios sobre *Werneria ciliolata*, *W. dactylophylla*, *W. digitata*, *W. nubigena* HBK, *W. pygmaea*, *W. poposa*, *W. satfordiae* y *W. stuebelli*. La naturaleza química estructural de los compuestos aislados de estas especies corresponden a las clases: alcaloides, benzofuranos, benzopiranos o cromenos, cumarinas, diterpenos, flavonoides, hidroxiacetofenonas y derivados, monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenos y/o esteroides e hidrocarburos alifáticos lineales.

El estudio fitoquímico de *Xenophyllum dactylophyllum*, además de plicatin A y plicatin B, se reportó tres flavonoides glucosídicos, una cumarina y cuatro ent-13-epi-manoilo derivados de óxido o ent-aurenos diterpenos como componentes de las partes aéreas de la planta. Los compuestos descritos para esta especie fueron quercetina-3-O-ramnoglucósido (rutina), quercetina-7-O-ramnósido, hesperetina-O-ramnoglucósido (hesperidina), 7-hidroxi-6-metoxi-cumarina (escopoletina) y óxido de ent-13-epi-óxido-manoilo, óxido de ent-16-hidroxi-13-epi-manoyl, óxido de ent-14x,15x-epoxi-13-epi-manoilo y óxido de ent-16-hidroxi-14x,15x-epoxi-13-epi-manoilo.<sup>4,9</sup>

### 2.4. Biología tisular

La piel está conformada por dos capas, la epidermis externa y la dermis subyacente. La epidermis tiene cinco estratos celulares, las células de la capa basal se reproducen constantemente y durante su envejecimiento se desplazan hacia la superficie, en donde se depositan y gracias a un proceso de transformación gradual cambian de células redondas y nucleadas en escamas planas y ricas en queratina, que se encuentran en las capas externas de la epidermis, las cuales están desvitalizadas; en la epidermis se encuentran estructuras especializadas como los folículos pilosos. La dermis está conformada por fibras de colágeno y elastina en una matriz de mucopolisacáridos, irrigadas por una rica trama vascular y sostiene la epidermis; la elastina le aporta elasticidad y la colágena su fuerza tensil. El grosor y por tanto su tensión, varían según la zona corporal. En la unión de la dermis y la epidermis se forma una serie de ondas llamadas pedículos radiculares o papilas. Bajo la dermis se encuentra el tejido hipodérmico de sostén, o tejido graso subcutáneo, el cual contiene nervios y sus terminales, vasos sanguíneos que irrigan la piel y linfáticos.<sup>15</sup>

## 2.5. La herida

Es la región anatómica donde queda interrumpida la continuidad celular entendiéndose por una solución de continuidad de las cubiertas externas que lo protegen, como es el caso de los tegumentos, las capas de revestimiento mucoso o de la superficie o cápsula fibrosa de los órganos. Dicha lesión tisular es el común denominador de todo trauma y afecta al organismo en diversas formas, incluyendo pérdida local de fluidos, dolor por estímulos neurales y liberación de productos celulares a la circulación. En todas las heridas hay una alteración metabólica continua que dura semanas, meses o incluso años y la mayor parte de estas curan hasta lograr integridad tensil durante el periodo de balance nitrogenado negativo; el restablecimiento del metabolismo nitrogenado hacia el estado anabólico, tiene mayor importancia para recuperar la fuerza muscular y el vigor que para la curación de las heridas. El riesgo de sufrir una lesión o que dicha lesión se haga mayor, aumenta cuando se pierde la sensibilidad, ya que no se puede transmitir información sobre la proximidad o presencia de un peligro.<sup>15</sup>

## 2.6. 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 pero se superponen en el tiempo: hemostasia, inflamatoria, proliferativa o de granulación, de epitelización y de remodelación (Figura 1).<sup>15</sup>

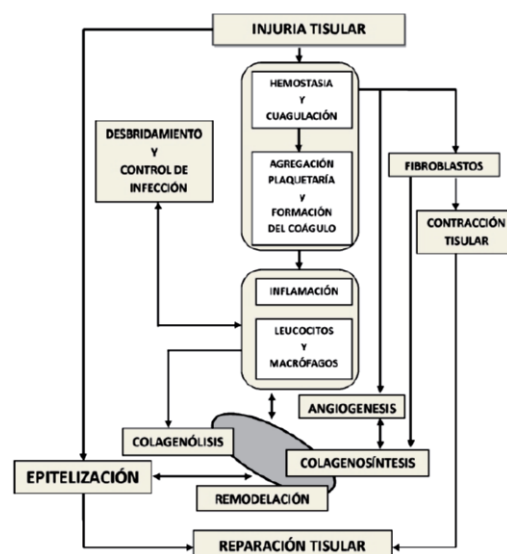


Figura 1. Fisiología de la cicatrización.<sup>15</sup>

### **a. Fase I. Hemostasia**

Una vez ocurre la lesión se produce el daño en los vasos sanguíneos con la consiguiente pérdida de plasma, células y factores hacia el intersticio. 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.<sup>15</sup>

### **b. 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, que aumentan la expresión del complejo dimérico CD11/CD18, facilitando la marginación vascular y la posterior diapédesis. Una vez 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. La formación de un coágulo producida por la cascada de coagulación que inician los elementos de la sangre y llevan a la formación de trombina, enzima que transforma el fibrinógeno en fibrina que promueve la coagulación además de activar las plaquetas. El fibrinógeno y los receptores de superficie de las plaquetas se unen y se polimerizan para formar una matriz de fibrina, dando lugar a un trombo. El coágulo de fibrina y la fibronectina proveen una matriz inicial que favorece la migración de monocitos, fibroblastos y queratinocitos además de intervenir en la respuesta inflamatoria por medio de la bradiquinina y las fracciones C3a y C5a del complemento, los cuales aumentan la permeabilidad vascular y promueven la quimiotaxis de neutrófilos y monocitos. Posteriormente, se produce el acúmulo de monocitos que reemplazan a los neutrófilos, estimulados por factores quimiotácticos, (fragmentos de colágeno, elastina, fibronectina, trombina enzimáticamente activa, TGF  $\beta$ 1, kalikreína y productos de degradación de la matriz). 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. Así se produce la descontaminación del foco y el desbridamiento autolítico facilitado por la liberación de enzimas como las colagenasas. Las endotoxinas bacterianas también activan la liberación de Interleucina-1 (IL-1) por parte de los macrófagos, que a su vez estimula la liberación de Interleucina (IL-8) que atraerá más neutrófilos, aumentando así la destrucción tisular. 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  $\alpha$  y  $\beta$ , PDGF, FGF y IGF-1) con un importante papel en la neoformación tisular; siendo los procesos descritos los que permiten la inducción de la angiogénesis y la formación de tejido de granulación, preparando el lecho de la lesión para la siguiente etapa fisiológica.<sup>15</sup>

### **c. 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. La hipoxia en el centro de la herida, favorece la liberación de factores de crecimiento estimulantes de la proliferación de fibroblastos (TGF  $\beta 1$ , PDGF, FGF, EGF y VEGF). Para moverse a través de la matriz de fibrina, se requiere un sistema proteolítico que facilita el desplazamiento celular, compuesto por enzimas derivadas de fibroblastos, proteasas séricas (plasmina y plasminógeno del suero, activador del plasminógeno) y colagenasas (MMP-1 o metaloproteinasa de la matriz; MMP-2 o gelatinasa y MMP-3 o estromalisina). El PDGF estimula la liberación de estas proteínas del fibroblasto mientras que el TGF  $\beta$  induce la secreción de inhibidores de las proteinasas, controlando así la degradación de la matriz. Con la migración de fibroblastos estos depositan una neomatriz provisional de fibronectina y ácido hialurónico estimulados por citoquinas y factores de crecimiento (TGF  $\beta$ , 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 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. Los vasos sanguíneos adyacentes a la lesión emiten yemas



capilares, en cuyo extremo se encuentran las células endoteliales, que sufren un cambio fenotípico que les permite proyectar pseudópodos a través de las membranas basales fragmentadas y migrar al espacio perivascular; en esta proliferación endotelial tiene un papel especial el factor de crecimiento vascular-endotelial (VEGF) y las angiopoyetinas (Ang). La Ang 2 interactúa con un receptor de las células endoteliales (Tie 2), haciéndolas más laxas y disminuyendo el contacto de éstas con la matriz para favorecer la acción del VEGF. El TGF  $\beta$  estimula la síntesis de fibronectina y proteoglicanos para constituir la matriz provisional, y a su vez facilita la migración celular e induce el fenotipo de célula endotelial adecuado para la formación de tubos capilares.<sup>15</sup>

#### **d. Fase IV. Epitelización**

Para que se lleve a cabo la epitelización de la herida, los queratinocitos deben migrar desde los bordes de la herida o desde los anexos remanentes con el fin de restablecer la barrera cutánea, dicha migración se produce gracias a cambios en su fenotipo que 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 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  $\beta$ . Luego la migración será sobre la matriz definitiva rica en colágeno, mediada por receptores de superficie colagénicos ( $\alpha 2$ -  $\beta 1$ ) y la liberación de TGF  $\alpha$ /EGF; 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  $\alpha$ , PDGF/ FGF, etc.) y al “efecto borde” (ausencia de células vecinas en aposición que dispararía el estímulo proliferativo en los márgenes de la herida).<sup>15</sup>

#### **e. Fase V. Remodelación o de contracción**

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. Con el tiempo la fibronectina y el ácido hialurónico desaparecen por acción de proteasas y hialuronidasas respectivamente.<sup>15</sup>

## **2.7. Principales metabolitos secundarios que participan en la cicatrización**

### **2.7.1. Flavonoides**

La principal actividad atribuida a los flavonoides es la de ser “venoactivos”, es decir, ser capaces de disminuir la permeabilidad de los capilares sanguíneos y aumentar su resistencia. Tienen como núcleo básico al 2-fenil cromano. Farmacológicamente son antioxidantes (por quelación de metales), acción antiespasmódica, antiinflamatoria, anticoagulante indirecto de la sangre, acción diurética, antiedematoso, hipocolesterolemiantes.<sup>16</sup>

Por ejemplo, se ha demostrado que los flavonoides purificados de *Vitex leucoxylo*n poseen actividad cicatrizante al reducir significativamente la resistencia a la rotura de heridas.<sup>17</sup>

### **2.7.2. Taninos**

Los taninos son polifenoles, distribuidos en taninos condensados e hidrolizables, con una inmensa variabilidad estructural, alcanzando altos grados de polimerización.<sup>18</sup> Los taninos son conocidos desde la antigüedad por sus propiedades curtientes, astringentes, antiinflamatorias y antidiarreica.<sup>19</sup> Las proantocianidinas o taninos condensados son un grupo de bioflavonoides polifenólicos biológicamente activos que son sintetizados por muchas plantas y se ha demostrado que facilitan la cicatrización de heridas<sup>20</sup>, tanto bajo la forma de extracto como de formulaciones semisólidas.<sup>21</sup> Se postula que al limitar la pérdida de fluidos e impedir las agresiones externas, los taninos favorecen la regeneración de los tejidos en caso de heridas superficiales o quemaduras.<sup>16</sup>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación

El presente trabajo de Investigación se realizó en los laboratorios de Farmacología y Farmacognosia de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

#### 3.2. Población y muestra

**3.2.1. Población:** Hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca” que crece en el distrito de Paras, provincia de Cangallo, Departamento de Ayacucho.

**3.2.2. Muestra:** Un kilogramo de hojas frescas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca”.

#### 3.2.3. Animales de experimentación

30 ratones albinos, *Mus musculus*, machos, de 2 meses de edad y de 20 a 25 g de peso, que fueron adquiridos del Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos, Lima.

#### 3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

##### 3.3.1. Recolección y secado de la muestra

La recolección, selección y secado de las muestras se realizó de acuerdo a los procedimientos establecidos por Villar del Fresno. Se seleccionaron las hojas intactas; se lavaron con abundante agua y se secaron a la sombra, en una habitación ventilada, sobre papel periódico, aproximadamente por una semana.<sup>22</sup>

##### 3.4. Obtención del extracto hidroalcohólico

Medio kilogramo de hojas secas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca” fueron molidos en un mortero de porcelana. El material seco y molido obtenido se extrajo por lixiviación en un extractor dinámico con agitación y temperatura controladas, durante tres horas con etanol al 80%. Luego se filtró con papel Whatman N°40 y la solución hidroalcohólica se concentró a presión y

temperatura reducida en un rotavapor; finalmente, hasta sequedad en una estufa a una temperatura no mayor de 50°C.

### **3.5. Tamizaje fitoquímico**

Se identificaron los diferentes metabolitos secundarios siguiendo los protocolos según Miranda y Cuéllar.<sup>23</sup>

### **3.6. Evaluación de los Parámetros Fisicoquímicos**

#### **3.6.1. Prueba de solubilidad**

Se coloca un gramo de extracto de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca” en un tubo de ensayo y se añade un mililitro de disolvente (agua, metanol, etanol y cloroformo), se agita y se observa bajo indicadores de soluble, poco soluble o insoluble.<sup>23</sup>

#### **3.6.2. Cenizas totales**

Se procede de acuerdo al método descrito por Miranda.<sup>23</sup>

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Donde,

C : Porcentaje de cenizas totales.

M : Masa del crisol vacío (g)

M1 : Masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M2 : Masa del crisol con la ceniza (g)

#### **3.6.3. Determinación del contenido de humedad**

Se procede de acuerdo al método descrito por Miranda.<sup>23</sup>

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

Donde,

%H : Pérdida en peso por desecación

M2 : Masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M1 : Masa del crisol con la muestra de ensayo desecada (g)

M : Masa del crisol vacío (g)

### **3.7. Diseño de investigación**

El diseño de investigación fue completamente aleatorizado en el que los animales de experimentación fueron agrupados al azar en cinco grupos, donde cada grupo comprendió seis repeticiones de la siguiente manera:

Grupo I: Control (gel base, desprovisto de extracto)

Grupo II: Estándar de referencia: Dermaclín Plus® (polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos 1%)

Grupos III, IV y V: Geles al 1; 2 y 4% de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca”, respectivamente (Tabla 1).

**Tabla 1.** Diseño experimental para la evaluación del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca”. Ayacucho, 2016.

Grupo	Gel base	Dermaclín Plus®	Concentración		
			1%	2%	4%
I (control)	X				
II (estándar)		X			
III			X		
IV				X	
V					X

### 3.8 Evaluación del efecto cicatrizante

Para la administración del extracto hidroalcohólico del *xenophyllum dactylophyllum* “conoca” se elaboró geles con carboximetilcelulosa (CMC) como vehículo de administración a concentraciones de 1; 2 y 4%

#### 3.8.1 Test de cicatrización

Se fundamenta en la aplicación de una fuerza de tensión ejercida (medida en mililitros de agua) necesaria para abrir una herida incisa de un centímetro de longitud producida en el tercio superior del lomo del ratón.<sup>24</sup>

El procedimiento fue como sigue:

- Se depila el lomo de los ratones en un área aproximada de dos centímetros cuadrados con el depilatorio comercial Opilca®.
- Pesar a los ratones y colocarlos en cubetas de vidrio para cada grupo.
- Administrar por vía subcutánea (SC) 0,01mL de Pentobarbital a cada ratón para una buena manipulación, sin provocar la muerte.
- Se les practica una incisión en sentido longitudinal de un centímetro en el lomo de cada ratón, previa desinfección de la zona.
- Se practica un punto de sutura con un punto triple utilizando hilo de sutura no reabsorbible Mersilk® 3/0.
- Se administra la primera dosis de tratamiento a cada grupo: gel de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca” al 1; 2%; y 4%; control (gel); medicamento de referencia (Dermaclín Plus®) cantidad necesaria hasta recubrir la herida cada 12 horas.

- Luego de 72 horas de tratamiento se procede a sacrificar a los ratones con una sobredosis de Pentobarbital sódico 1%; se retira los puntos de sutura y se coloca los animales en posición de cúbito ventral sobre el dinamómetro.
- Se inserta las agujas del dinamómetro a 0,5 cm de los bordes de la herida y el agua contenido en la bureta se dejó caer al vaso hasta que genere una fuerza de tensión que abre la herida en toda su longitud.
- El porcentaje de efecto cicatrizante, se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ EC} = \frac{X_{\text{tto}} - X_{\text{b}}}{X_{\text{tto}}} \times 100$$

Dónde:

%EC : Porcentaje de efecto cicatrizante

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

$X_{\text{b}}$  : Fuerza promedio para abrir la herida del grupo sin tratamiento (Control).

### **3.8.2 Análisis estadístico**

La diferencia significativa existente entre los tratamientos fue evaluada mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 95%. Las comparaciones de las medias de los volúmenes de agua de cada tratamiento se hizo con la Prueba HSD de Tukey, con el programa SPSS versión 20.

#### **IV. RESULTADOS**

**Tabla 2.** Porcentaje de cenizas totales y contenido de humedad en la muestra vegetal de *Xenophyllum dactylophyllum*.

	Crisol vacío (M)	Crisol más muestra (M <sub>1</sub> )	Crisol más cenizas (M <sub>2</sub> )	Porcentaje
Cenizas totales	16,1233	18,1233	16,2090	<b>4,285</b>
	Crisol vacío (M)	Crisol más muestra (M <sub>2</sub> )	Crisol más muestra desecada (M <sub>1</sub> )	Porcentaje
Contenido de humedad	18,8777	20,8777	19,9062	<b>48,575</b>



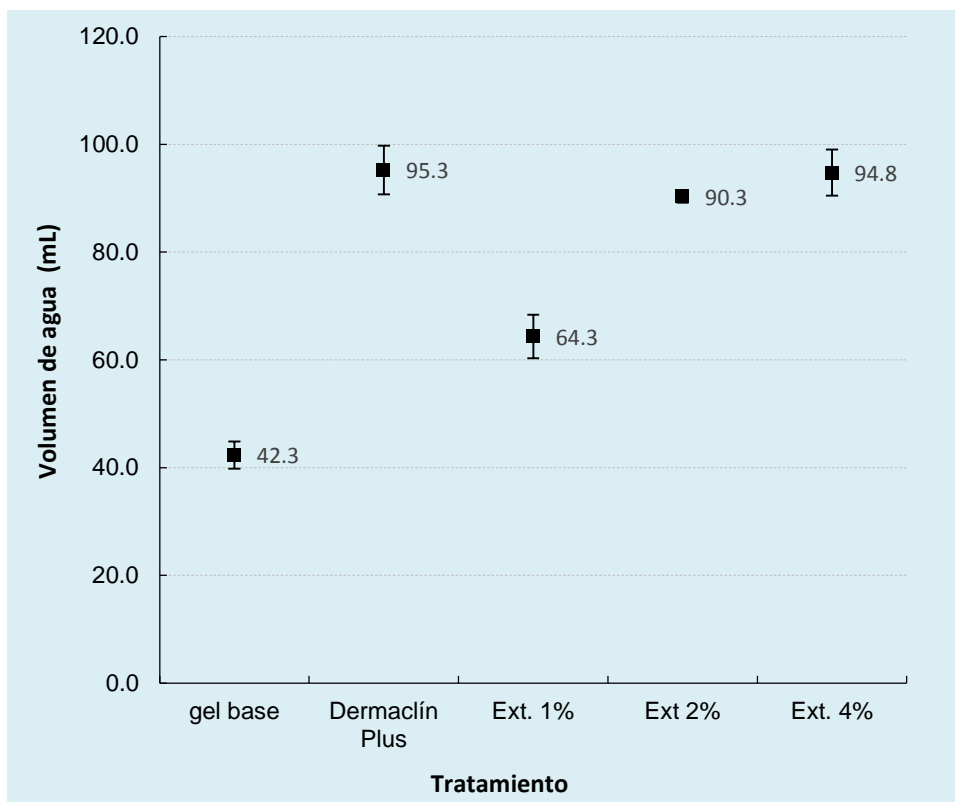
**Tabla 3.** Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum Dactylophyllum*.

Solvente	Valoración
Cloroformo	Insoluble
Agua	Poco soluble
Etanol 96%	Soluble
Metanol	Soluble

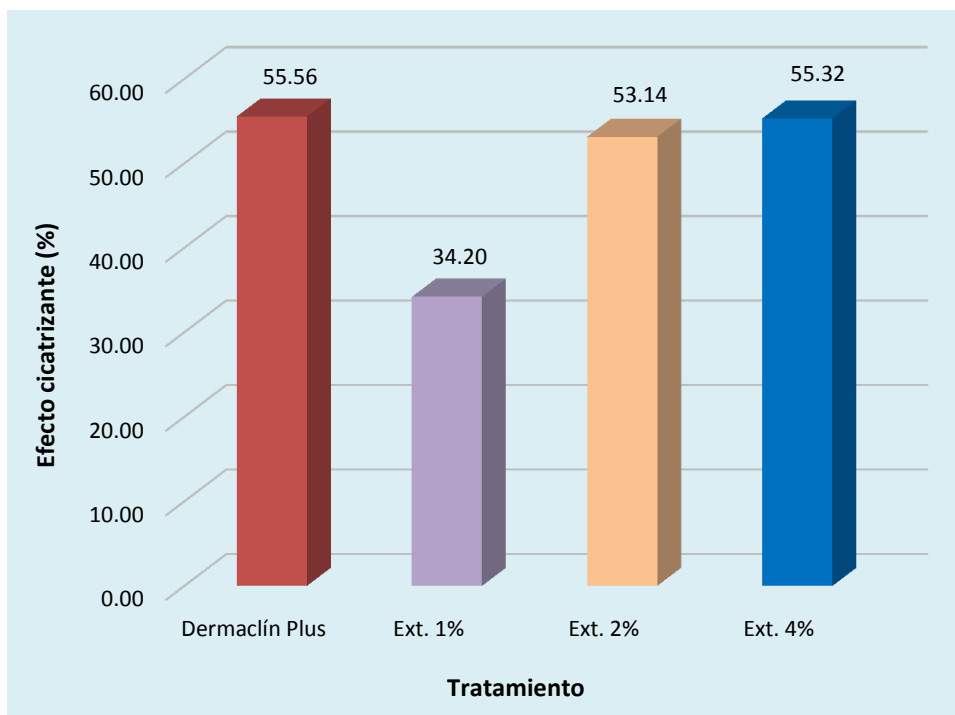
**Tabla 4.** Principales metabolitos secundarios identificados cualitativamente en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca”. Ayacucho, 2016.

Ensayo	Metabolito	Observación	Valoración
Catequinas	Catequinas	Fluorescencia verde esmeralda	++
Fehling	Azúcares reductores	Coloración rojo ladrillo	++
Espuma	Saponinas	Presencia de espuma.	+++
Cloruro Férrico	Compuestos fenólicos y taninos	Precipitado azul negruzco intenso	+++
Shinoda	Flavonoides	Coloración naranja intensa	+++
Wagner	Alcaloides	Precipitado marrón	++
KMnO <sub>4</sub>	Compuestos oxidables	Decoloración	+++
Lieberman	Triterpenoides	Coloración rojiza	++

+++ : Abundante    ++ : Regular    + : Escaso



**Figura 2.** Variación del volumen de agua en mililitros como fuerza de tensión ejercida para abrir las heridas en proceso de cicatrización en función de los tratamientos experimentales. Ayacucho, 2016.



**Figura 3.** Porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca” en ratones albinos. Ayacucho, 2016.

## V. DISCUSIÓN

Las muestras de *Xenophyllum dactylophyllum* "conoca" fueron recolectadas el mes de mayo de 2016, en el distrito de Paras, Provincia de Cangallo, región Ayacucho, sobre los 4800 msnm, en su hábitat natural, una región subnival y de suelo crioturbado de la Cordillera de los Andes donde se observa en primer plano un magnifico cerro cubierto por nieve y el acceso es muy complicado por las bajas temperaturas que se perciben en este lugar, la altitud es un factor determinante para la distribución de varias especies de *xenophyllum* se han reportado en los andes del territorio peruano 14 especies y trece de ellas están adaptadas o tienen preferencia a desarrollarse desde los 4000 metros muchas veces las encontramos cubierta por nieve. (Anexo 2).

La Tabla 2, expone los resultados de los principales metabolitos secundarios identificados cualitativamente en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* "conoca". Es evidente la presencia importante de compuestos fenólicos, particularmente, flavonoides. Del mismo modo, saponinas, alcaloides y compuestos reductores en general, Lo que coincide en gran medida con lo reportado por otros autores como Bravo y col.<sup>4</sup> y De Tommasi y col.<sup>9</sup>

Respecto al ensayo farmacológico, luego de haber practicado la incisión dérmica en el lomo de los ratones y después de transcurridos tres días de tratamiento cada ocho horas, se empleó la técnica tensiométrica propuesto por Howes y col. para evaluar la cicatrización. El fundamento lógico de esta técnica consiste en que un proceso óptimo de cicatrización brinda mayor resistencia a la fuerza de tensión ejercida por agua o arena<sup>25</sup>; es decir, mayor resistencia a la ruptura, existiendo una relación directamente proporcional entre estas variables. Sin embargo, aun cuando esta técnica resulta válida para estudios de sustancias con efecto sobre la cicatrización de heridas dérmicas, también demanda de

condiciones quirúrgicas y mucha precisión de parte del investigador en cada procedimiento.

La Figura 2, muestra la distribución de los volúmenes de agua en mililitros que ejercieron fuerzas de tensión para abrir las heridas en proceso en cicatrización. Es de notar que los datos obtenidos son similares en cada grupo de tratamiento, es decir, no son dispersos. Con el medicamento de referencia, obviamente, se alcanza el mayor volumen de resistencia debido a sus características farmacotécnicas y la pureza de sus principios activos. Sin embargo, como se ve, los promedios de resistencia alcanzados con los extractos a las concentraciones de 2 y 4% también son importantes en vista de que son cercanos a los del estándar de referencia. Estos datos, al ser sometidos a un contraste estadístico con la prueba de Tukey, resultan ser estadísticamente similares ( $p > 0,05$ ). Análogamente, esta misma tendencia se puede apreciar en la Figura 3, donde se muestra en forma de porcentajes el efecto cicatrizante ejercido por el medicamento de referencia y los extractos administrados en gel base, observándose también que el efecto cicatrizante probablemente sea dependiente de la concentración. Los porcentajes fueron calculados considerando como punto de referencia el grupo control que únicamente recibió el vehículo, es decir, gel base como tratamiento.

La prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Anexo 10) nos brinda información más clara al respecto. El estadístico en referencia, con una confiabilidad del 95%, arroja como resultado que, efectivamente, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* "conoca" ejerce efecto cicatrizante dado que son diferentes estadísticamente con el grupo control ( $p < 0,05$ ). De otro lado, dicho estadístico nos muestra que el efecto logrado por las concentraciones de 2 y 4% es estadísticamente similar al estándar de referencia Dermaclín Plus, en vista de que  $p > 0,05$ , mientras que el efecto cicatrizante al 1% resultó ser diferente al estándar de referencia Dermaclín Plus, ya que  $p < 0,05$ .

El porcentaje alto de efecto cicatrizante, muy similar al estándar, que se ha logrado con el extracto hidroalcohólico a las concentraciones de 2 y 4%, demuestra que las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* contienen moléculas que promueven en gran medida el proceso de cicatrización de heridas dérmicas, entre los que destacan, según la literatura, y considerando nuestros hallazgos expuestos en la Tabla 2, los taninos, flavonoides, saponinas e incluso alcaloides.

Según Paco y col.<sup>25</sup> a través de los años, varios productos vegetales se han utilizado en el tratamiento de heridas; por ejemplo, existen extractos de hierbas que promueven la coagulación de la sangre, combaten la infección y aceleran su curación. El valor medicinal de estas plantas radica en constituyentes fitoquímicos bioactivos. La identificación de estos constituyentes fitoquímicos bioactivos a partir de extractos de plantas es clave para el diseño de nuevas terapias para la curación de heridas agudas y crónicas. En un futuro, la combinación de varios constituyentes fitoquímicos permitirá desarrollar una nueva clase de terapia que tenga implicancias en la cicatrización. Futuras investigaciones deberán establecer los mecanismos de actividad de los constituyentes fitoquímicos bioactivos y se podrá demostrar que pueden estimular respuestas celulares en lesiones in vivo. Finalmente, la investigación de plantas nativas, extractos, o fracciones proteicas se convierte en un área de interés para futuras investigaciones. Estos componentes incluyen diversas familias químicas como alcaloides, aceites esenciales, flavonoides, taninos, terpenoides, saponinas, y compuestos fenólicos.

Los taninos son ampliamente conocidos por sus propiedades cicatrizantes cuya participación en la evolución histológica de las heridas es importante. Por ejemplo, el extracto de taninos de los frutos inmaduros de *Terminalia chebula* son componentes eficaces que promueven el proceso de curación de heridas circulares en ratas Sprague-Dawley macho adultas tratadas con 5mg de extracto en vaselina. Los resultados a día 1, 3, 7, 10, 14 y 21, sugieren que dichos extractos de tanino pueden promover la cicatrización de heridas cutáneas en ratas, probablemente como resultado de una actividad antibacteriana y angiogénica potente de los extractos.<sup>26</sup>

Así mismo, se ha reportado también que los flavonoides apigenina y kaempferol, inhiben notablemente la producción de FNT $\alpha$  (factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ) inducidos por MMP-9 en queratinocitos epidérmicos humanos.<sup>27</sup>

Ciertas saponinas también exhiben efectos similares; por ejemplo, las saponinas aisladas de la raíz de Ginseng rojo (protopaxadiol) administradas sobre heridas inducidas por quemadura en ratones albinos Balb/c durante 19 días consecutivos. Dichas saponinas mostraron actividad cicatrizante probablemente por la promoción de la angiogénesis durante la reparación de la herida a través de la estimulación de la producción de VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), a través del aumento de la expresión de HIF-1 $\alpha$  (factor 1 $\alpha$  de hipoxia

inducible) en los queratinocitos, y debido a la elevación de IL -1b resultante de la acumulación de macrófagos en la herida.<sup>28</sup>

Se ha demostrado también que ciertos alcaloides también poseen actividad cicatrizante, tal es el caso del alcaloide taspina, el cual ha sido documentado como cicatrizante, antiinflamatorio y con actividad contra el desarrollo de sarcomas y antiviral.<sup>29</sup>

Otros elementos de juicio que podrían apoyar el efecto cicatrizante de *Xenophyllum dactylophyllum*, son la probable capacidad antiséptica del extracto que pudo haber inhibido la proliferación de microorganismos capaces de infectar la herida; el poder oclusivo del gel base administrado que habría disminuido la probabilidad del ingreso de gérmenes y la capacidad antioxidante de los compuestos químicos presentes en el extracto que hayan favorecido la neutralización de radicales libres promotores de lesión celular, haciendo que el proceso de cicatrización se desarrolle eficazmente. Sin duda, una combinación sinérgica de todos estos elementos y los compuestos presentes (con bioactividad demostrada) explicaría muy bien el efecto cicatrizante observado. De hecho, muchos estudios sobre cicatrización con extractos vegetales se han llevado a cabo con la evaluación paralela de la actividad antimicrobiana *in vitro* con cepas aisladas de heridas. Por ejemplo, Chah y col.<sup>30</sup>, en su trabajo con extractos vegetales metanólicos crudos, concluye que al ser antibacterianas podrían desarrollarse fitofármacos para el tratamiento de las heridas sépticas.

El porcentaje de cenizas totales de las especies vegetales es un indicativo del contenido total de minerales en la muestra, es un valor que puede considerarse como una medida de la calidad, y a menudo es un criterio útil para determinar la identidad de la planta. Cuando hay un alto contenido se sugiere la presencia de adulterantes inorgánicos, Las cenizas totales miden el total de residuos sólidos filtrables, solubles en ácidos e insolubles en ácido clorhídrico. Por lo tanto los resultados obtenidos que figuran en el anexo No 6 para cenizas totales del *xenophyllum dactylopyllum* es de 4.285% valor que se encuentra dentro de los límites establecidos la USP # 30 en los que los límites máximos para las cenizas totales es 12%,podemos concluir que no contiene compuestos inorgánicos como metales pesados.



## VI. CONCLUSIONES

1. Se evaluó los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* "conoca".
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* contiene catequinas, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos y taninos, flavonoides, alcaloides, compuestos oxidables y triterpenoides.
3. El efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* a concentraciones de 1, 2 y 4% fue de 34,20; 53,14 y 55,32%, respectivamente, siendo la de 2 y 4% estadísticamente similar al estándar de referencia Dermaclín Plus® ( $p > 0,05$ ).



## **VII. RECOMENDACIONES**

1. Evaluar histológicamente el proceso de cicatrización en un tratamiento prolongado con esta planta.
2. Realizar estudios de toxicidad dérmica para evaluar la seguridad de los metabolitos secundarios de esta especie vegetal.
3. Realizar estudios clínicos con fórmulas semisólidas elaboradas a base de los flavonoides de esta especie.



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Menéndez AB, Parra AL, Pavón VB, Dominguez CC, Martínez OV, Sardinas IG, *et al.* Actividad Cicatrizante y Ensayos de Irritación de la Crema de *Calendula officinalis* al 1%. Latin American Journal of Pharmacy. 2007; 26(6):811.[acceso 19 de febrero de 2016].disponible en : <http://www.latamjpharm.org/>.
2. Nayak BS, Pereira LMP. *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2006; 6(1):41.[acceso 19 de febrero de 2016]. disponible en : <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/6/41/prepub>
3. Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan, P. Ethnopharmacological approaches to wound healing—exploring medicinal plants of India. Journal of Ethnopharmacology. 2007; 114(2):103-113.[acceso 20 de febrero de 2016]. disponible en: <http://www.herbalremediesinfo.com/history-of-herbal-medicine.html>
4. Bravo JA, Camacho V, Rendón P, Willy J. Chemical Education: Structural elucidation plicatin A and B from *Werneria Dactylophylla*. Revista Boliviana de Química. 2009; 26(2):63-76.[acceso 20 de febrero de 2016].disponible en <http://biblioteca.posgraduacaoredentor.com.br/link>
5. Funk VA. "Xenophyllum, a new Andean genus extracted from Werneria sl (Compositae: Senecioneae). *Novon* 1997: 235-241.[acceso 21 de febrero de 2016].disponible en : [http://Xenophyllum, a new Andean genus extracted from Werneria s.l. \(Compositae: Senecioneae\)](http://Xenophyllum, a new Andean genus extracted from Werneria s.l. (Compositae: Senecioneae))
6. Tubée M, Daniel B. Lista anotada de nuevas adiciones para la flora andina de Moquegua, Perú. Revista peruana de biología. 2012; 19(3):307-316.[acceso 20 de febrero de 2016].disponible en <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/oai>
7. Cano A, Mendoza W, Castillo S, Morales M, La Torre M, Aponte H, et al. Flora y vegetación de suelos crioturbados y hábitats asociados en la Cordillera Blanca, Ancash, Perú. Revista Peruana de Biología. 2010. 17(1):95-104. [acceso 21 de febrero de 2016].disponible en: <http://www.scielo.org.pe>.
8. Soukup J. Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana. Lima: Editorial Salesiano; 1970.[acceso 21 de febrero de 2016].disponible en : <http://www.scielo.org.pe>.
9. De Tommasi N, Aquino R, De Simone F, Piacente S, Pizza C. Diterpenes from *Werneria dactylophylla*. Phytochemistry. 1992; 31(3):1042-1043.[acceso 21 de febrero de 2016].disponible en :<http://www.scielo.org.pe>
10. Lock O, Castillo P, Doroteo V, Rojas R. Antioxidant activity *in vitro* of selected Peruvian medicinal plants. Acta Horticulturae. 2005; 675:103-106.[acceso 21 de febrero de 2016].disponible en: <http://www.dev.scielo.org.pe>
11. Santander J, Otto C, Lowry D, Cuellar M, Mellado M, Salas C, et al. Specific Gram-Positive Antibacterial Activity of 4-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl) Acetophenone Isolated from *Senecio graveolens*. British Microbiology Research Journal. 2015; 5(2):94-106.[acceso 23 de febrero de 2016].disponible en :<http://www.researchgate.net>.
12. Remache A, Del Carmen M. Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos de Bolsa de Pastor (*Capsella bursa-pastoris*) mediante el test de heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*). [Tesis de Grado]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2014.

13. Cabezas GD. Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de “mastuerzo” (*Tropaeolum majus*) en ratones (*Mus musculus*). [Tesis de Grado]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015.
14. Cayo C, Pérez A. Eficacia histopatológica en la fase inflamatoria, proliferativa y osteogénica en la cicatrización alveolar post exodoncia aplicando Matico (*Piper angustifolium*). *Ciencia y Desarrollo*. 2015; 17(2):7-17.[acceso 23 de febrero de 2016].disponible en: <http://dx.doi.org/10.21503/cienciaydesarrollo.2014.v17i2.01>
15. Hernández GAR. Fisiología de la cicatrización cutánea. *Revista Facultad de Salud-RFS*. 2015. 2(2):60-78.[acceso 23 de febrero de 2016].disponible en : [revistafacultaddesalud@usco.edu.co](mailto:revistafacultaddesalud@usco.edu.co)
16. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. 2ª ed. Zaragoza: Editorial Acirbia S.A.; 2001.
17. Sarma SP, Aithal KS, Srinivasan KK, Udupa AL, Kumar V, Kulkarni DR, Rajagopal PK. Anti-inflammatory and wound healing activities of the crude alcoholic extract and flavonoids of *Vitex leucoxyton*. *Fitoterapia*, 1990; 61(3):263-265.[acceso 25 de febrero de 2016].disponible en : <http://www.herbapolonica.pl>
18. Kardel M, Taube F, Schulz H, Schütze W, Gierus M. Different approaches to evaluate tannin content and structure of selected plant extracts-review and new aspects. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 2013; 86(1):154-66.[acceso 25 de febrero de 2016].disponible en : <http://citeseerx.ist.psu.edu/>
19. Lock O. Investigación fitoquímica. 2ª ed. Lima: Fondo editorial PUCP; 1994. [acceso 25 de febrero de 2016].disponible en: <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/download/>
20. Sen CK, Khanna S, Gordillo G, Bagchi D, Bagchi M, Roy S. Oxygen, oxidants, and antioxidants in wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2002; 957(1):239-249.[acceso 25 de febrero de 2016].disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j...2002.../references>
21. Nirmala S, Ravichandiran V, Bathula N, Dubala J, Kumar S, Arun S. Stability studies and evaluation of the semisolid dosage form of the tannin fraction from the stem bark of *Ficus racemosa* Linn. for wound healing activity. *Inventi Impact: Ethnopharmacology*, 2012.[acceso 25 de febrero de 2016].disponible en :[http://inventi.in/journal/current\\_issue/impact/4/pharm-analysis-quality-assurance](http://inventi.in/journal/current_issue/impact/4/pharm-analysis-quality-assurance)
22. Villar del Fresno A. *Farmacognosia General*. Madrid: Editorial Síntesis S.A.; 1999.
23. Miranda M, Cuellar A. *Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales*. Universidad La Habana: Universidad de La Habana; 2000.
24. Howes E, Sooy J, Harvey S. The healing of Wounds as determined by their tensile strength. *Jour AMA*. 1929; 92(1).[acceso 25 de febrero de 2016].disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1385702/pdf/annsurg00387-0126.pdf>
25. Paco K, Ponce-Soto LA, Lopez-Illasaca M, Aguilar JL. Determinación del efecto cicatrizante de *Piper aduncum* (matico) en Fibroblastos Humanos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2006; 33(3).[acceso 25 de febrero de 2016]disponible en : <http://www.rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/2329>
26. Li K, Diao Y, Zhang H, Wang S, Zhang Z, Yu B, Yang, H. Tannin extracts

- from immature fruits of *Terminalia chebula* Fructus Retz. promote cutaneous wound healing in rats. BMC complementary and alternative medicine. 2011; 11(1):86.[acceso 26 de febrero de 2016].disponible en:<http://bmccomplementaryandalternativemed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6882-11-86>
27. Majtan J, Bohova J, Garcia-Villalba R, Tomas-Barberan FA, Madakova, Majtan T, Klaudiny J. Fir honeydew honey flavonoids inhibit TNF- $\alpha$ -induced MMP-9 expression in human keratinocytes: a new action of honey in wound healing. Archives of dermatological research. 2013; 305(7):619-627.[acceso 26 de febrero de 2016].disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23812412>
  28. Kimura Y, Sumiyoshi M, Kawahira K, Sakanaka M. Effects of ginseng saponins isolated from Red Ginseng roots on burn wound healing in mice. British journal of Pharmacology. 2006; 148(6):860-870. [acceso 26 de febrero de 2016].disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1617068/>
  29. Guillermo Navarro RF. Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomia scutellaefolia* R. et P., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. 2002.[acceso 26 de febrero de 2016].disponible en : [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1092/1/Guillermo\\_nr.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1092/1/Guillermo_nr.pdf)
  30. Chah KF, Eze CA, Emuelosi CE, Esimone CO. Antibacterial and wound healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology. 2006; 104(1):164-167.[acceso 26 de febrero de 2016].disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16226414>





## ANEXO

## Anexo 1

Certificado de la clasificación taxonómica de *Xenophyllum dactylophyllum*



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

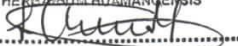
Que, El Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. **Ronald, QUISPE GÓMEZ**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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	:	<i>Xenophyllum</i>
ESPECIE	:	<i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (sch. Bip.) V. A. Funk
Nombre vulgar.	:	"conoca"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 13 de marzo del 2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
Bлга. Laura Aucasime Medina  
JEFE

## Anexo 2

Ejemplar de *Xenophyllum dactylophyllum* en su hábitat natural.



### Anexo 3

Tallos y hojas de *Xenophyllum dactylophyllum*



#### Anexo 4

Extracción del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum*.



## Anexo 5

Reacciones de identificación cualitativa de metabolitos secundarios en el del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum*.





## Anexo 6

### Dermaclín Plus®

#### Crema Antiséptico, anestésico tópico

##### COMPOSICION

Cada 100 g contiene:  
Polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos 1,0 g  
Lidocaina clorhidrato 2,0 g  
Excipientes c.s.p.

##### ACCION FARMACOLOGICA

Los polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos tienen acción bactericida, fungicida, antiviral y antiparasitaria extremadamente potente y de amplio espectro efectivo y potente acción residual.

**Lidocaina** es un anestésico que aplicado tópicamente sobre la piel o la 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.

##### INDICACIONES

Para el tratamiento desinfectante de amplia variedad de lesiones de la piel.  
Para calmar el dolor y otros síntomas molestos de la piel.

##### DOSIS RECOMENDADA

La dosis debe ser individualizada según la localización de la lesión, edad del paciente, tamaño, y estado físico.  
En heridas: Aplicar 1 a 3 veces al día, luego de lavado y secado de la zona afectada.

##### INTERACCIONES

Agentes aniónicos.  
Sustancias con alto contenido en minerales.  
Jabones.  
Inhibidores de la colinesterasa, pueden inhibir el metabolismo del anestésico.  
Los anestésicos generales pueden incrementar las manifestaciones de toxicidad del SNC. Mexiletina o tocainida pueden incrementar los efectos sistémicos de la lidocaina. La metahemoglobinemia puede inducirse por medicamentos como: acetaminofén, cloroquina, dapsona, nitratos o nitritos, ácido para-amino-salicílico, tenipetina, fenobarbital, fentoina, primaquina y sulfonamidas (especialmente en niños), incluida la mafenida.

##### CONTRAINDICACIONES Y ADVERTENCIAS

Hipersensibilidad a alguno de los componentes de la fórmula.  
Los bioflavonoides cítricos poseen muy poca toxicidad.  
No aplique cerca de los ojos.  
En caso de contacto excesivo con la piel, lave la zona con agua y jabón, enjuague la piel con agua durante 15 minutos.  
En caso de contacto con los ojos, lave los ojos con agua durante al menos 15 minutos. Busque atención médica si persiste la irritación.  
Evite el uso de este producto en caso de alergias a anestésicos locales de tipo éster de PABA, o a tintes para el cabello.  
Use con cuidado en niños pequeños y en ancianos.

##### PRECAUCIONES

**Polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos:** La DL50 por toxicidad aguda del extracto que contiene bioflavonoides cítricos es de 5000 mg/kg de peso. En ratas recién nacidas, es de 400 mg/kg de peso.

La DL50 por toxicidad crónica en ratas y cobayos adultos, es de 2500 mg/kg.

No es corrosivo ni irritante primario. Estudios de toxicidad dérmica durante 2 años en ratas y ratones no mostraron efectos tóxicos ni sistémicos. Estudios de parche en humanos, a concentraciones de 1% y 2%, no produjeron irritación ni sensibilización. Concentraciones del 3% produjeron muy leve irritación en personas alérgicas.

No mostró efectos carcinogénicos en ratones durante 1 año y en ratas durante 2 años.

Los estudios de inhalación a largo plazo, a dosis de 100 a 150 mg/m<sup>3</sup> aire, 8 horas diarias, 5 días a la semana, por 90 días, no mostraron efectos.

A nivel de la mucosa ocular, concentraciones de 0,5%, 1% y 2%, produjeron irritación y eritema moderado.

En caso de embarazo y lactancia consulte a su médico.

**Lidocaina:** Administrada en muy altas dosis en modelos animales ocasionó lesiones tumorales como fibromas, fibrosarcomas, tumores hepáticos y nasales, hemangiomas, hemangiosarcomas, mesotelomas y tumores mamarios, entre otros. Lidocaina no ha mostrado teratogenicidad, embriotoxicidad, ni fetotoxicidad administrados en altas dosis en modelos animales.

Categoría de uso en la gestante por la FDA: B.

**Lactancia:** Alcanza niveles muy bajos en la leche materna.

**Pediatría:** No se recomienda el uso en neonatos menores de un mes por riesgo de metahemoglobinemia.

##### REACCIONES ADVERSAS

El uso de polifenoles cuaternarios conteniendo bioflavonoides cítricos en concentraciones elevadas produce leve irritación.

Dermatitis de contacto, angioedema, sensación de quemazón, punzadas, tumefacción no presentes antes de la terapia.

La lidocaina rara vez ocasiona reacciones anafilactoides, incluidos angioedema, urticaria, broncospasmo y shock. Es improbable que ocurran efectos sistémicos cuando el uso se ajusta a las guías de recomendaciones. La metahemoglobinemia es un evento muy raro que se presenta con coloración azulada de labios y lechos ungueales o piel, fatiga, debilidad, problemas respiratorios, taquicardia, cefalea, mareos, colapso, alteración mental y orina oscura.

##### TRATAMIENTO EN CASO DE SOBREDOSIS

Si ocurrieran signos locales persistentes o manifestaciones sistémicas, la crema debe ser removida totalmente de la superficie de contacto para disminuir su absorción. Las manifestaciones de toxicidad del SNC o depresión cardiovascular, o metahemoglobinemia, requieren atención médica inmediata.

Para la depleción circulatoria, administrar líquidos intravenosos y un vasopresor.

Para las convulsiones, administrar una benzodiazepina anticonvulsivante.



Para la metahemoglobinemia, administrar azul de metileno (1 a 2 mg/kg de peso corporal, intravenoso), y ácido ascórbico (100 a 200 mg, vía oral).

Asegurar y mantener la vía aérea, administrar oxígeno al 100%.

##### CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Manténgase entre 15 y 30°C, en un ambiente fresco. Proteger del congelamiento.

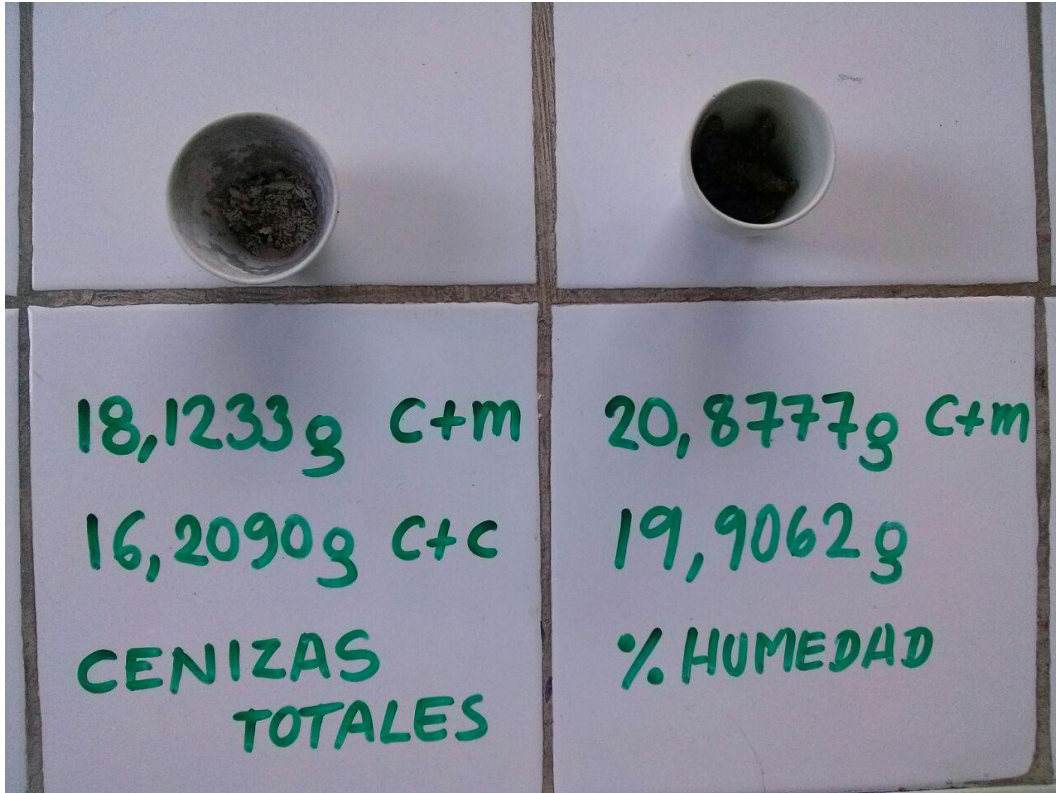
Mantener el envase cerrado cuando no está en uso.

Fabricado por  CIFARMA I Carretera Central km 3 Nº 1315  
para  QUIMICA SUIZA S Lima - Perú  
Para mayor información consultar al Tel. 211-4000  
DMCPFR0308 (V-1)

 OUILAB

### Anexo 7

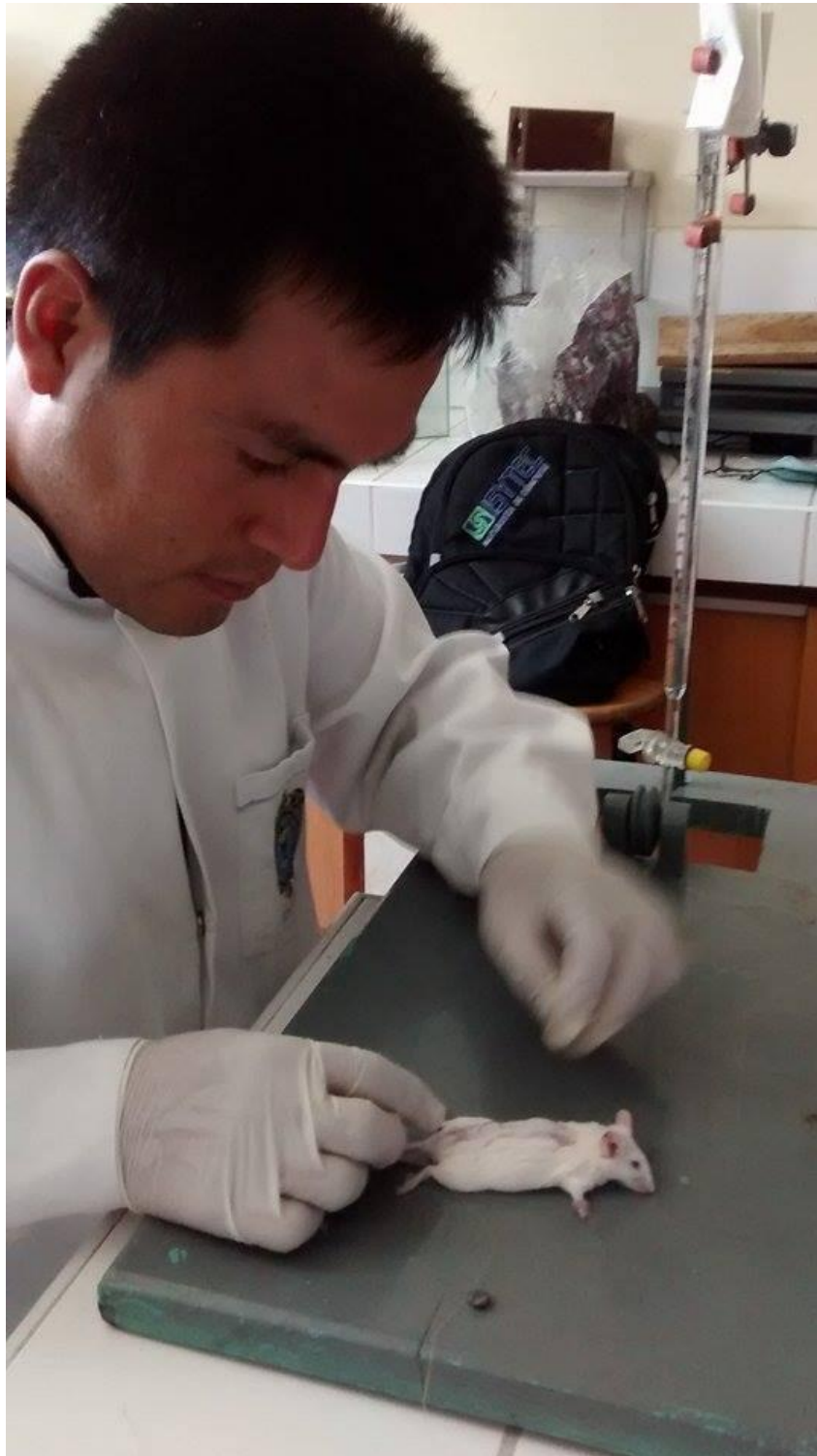
Cenizas y muestra desecada de las hojas y tallos de *Xenophyllum dactylophyllum*.





## Anexo 8

### Test de cicatrización en ratones albinos



## Anexo 9

Análisis de la varianza (ANOVA) de la fuerza de tensión expresado evaluación del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum*. como mL de agua, en la  $p < 0,05$

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7108,735	4	1777,184	130,436	0,000
Dentro de grupos	163,500	12	13,625		
Total	7272,235	16			

## Anexo 10

Análisis de las medias para los grupos en los Sub conjuntos homogéneos

Tratamiento	N	Sub conjunto para alfa=0,05		
		1	2	3
Gel base	3	42,33		
Extracto 1%	3		64,33	
Extracto 2%	3			90,33
Extracto 4%	4			94,75
Dermaclin	4			95,25
plus		1,000	1,000	,459
Sig.				

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica=3.333  
 b. Los tamaños de grupo no son iguales.se utiliza la media armónica de los tamaños de grupos. Los niveles de error de tipo I no son garantizados.

### Anexo 11

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la fuerza de tensión expresado como mL de agua, en la evaluación del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum*.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
gel base	Dermaclín Plus	-52,917*	2,819	,000	-61,90	-43,93
	Extracto 1%	-22,000*	3,014	,000	-31,61	-12,39
	Extracto 2%	-48,000*	3,014	,000	-57,61	-38,39
	Extracto 4%	-52,417*	2,819	,000	-61,40	-43,43
Dermaclín Plus	gel base	52,917*	2,819	,000	43,93	61,90
	Extracto 1%	30,917*	2,819	,000	21,93	39,90
	Extracto 2%	4,917	2,819	,446	-4,07	13,90
	Extracto 4%	,500	2,610	1,000	-7,82	8,82
Extracto 1%	gel base	22,000*	3,014	,000	12,39	31,61
	Dermaclín Plus	-30,917*	2,819	,000	-39,90	-21,93
	Extracto 2%	-26,000*	3,014	,000	-35,61	-16,39
	Extracto 4%	-30,417*	2,819	,000	-39,40	-21,43
Extracto 2%	gel base	48,000*	3,014	,000	38,39	57,61
	Dermaclín Plus	-4,917	2,819	,446	-13,90	4,07
	Extracto 1%	26,000*	3,014	,000	16,39	35,61
	Extracto 4%	-4,417	2,819	,543	-13,40	4,57
Extracto 4%	gel base	52,417*	2,819	,000	43,43	61,40
	Dermaclín Plus	-,500	2,610	1,000	-8,82	7,82
	Extracto 1%	30,417*	2,819	,000	21,43	39,40
	Extracto 2%	4,417	2,819	,543	-4,57	13,40

La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

## Anexo 12

### Matriz de consistencia

Titulo	Problema	Objetivo	Hipótesis	Variable	Marco teórico	Metodología
Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca". Ayacucho, 2016.	¿Tendrá efecto cicatrizante extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca"?	<p><b>General</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca".</li> </ul> <p><b>Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Evaluar los parámetros fisicoquímicos de las hojas de <i>xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca".</li> <li>-Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca".</li> <li>-Comparar el porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca" con un medicamento de referencia, Dermaclin Plus (Polifenoles Cuaternarios Derivados de Bioflavonoides Cítricos).</li> </ul>	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca" posee efecto cicatrizante.	<p><b>Independiente</b></p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca".</p> <p><b>Indicador:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Concentraciones de 1; 2 y 4% del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca".</li> </ul> <p><b>Dependiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Efecto cicatrizante</li> </ul> <p><b>Indicador:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Resistencia a la tensión expresada en ml de agua.</li> </ul>	<p>Clasificación taxonómica</p> <p>Descripción botánica</p> <p>Usos medicinales atribuidos por la medicina tradicional</p> <p>Composición química</p> <p>Antecedentes</p> <p>Biología tisular</p> <p>La herida</p> <p>Fisiología de la cicatrización</p> <p>Principales metabolitos secundarios con actividad cicatrizante</p>	<p><b>Tipo de investigación:</b> Básica experimental.</p> <p><b>Población:</b> hojas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca" que crece en el distrito distrito de Paras, provincia de Cangallo, Departamento de Ayacucho.</p> <p><b>Muestra:</b> 1,0 kg de hojas frescas de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> "conoca".</p> <p><b>Animales de experimentación</b></p> <p>30 ratones albinos de ambos sexos, de la especie <i>Mus musculus</i>, de 20 a 25 g de peso, que serán adquiridos del Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos – Lima.</p> <p><b>Recolección y secado de la muestra</b></p> <p><b>Obtención del extracto hidroalcohólico</b></p> <p><b>Tamizaje fitoquímico</b></p> <p><b>Atomizado</b></p> <p><b>Diseño experimental</b></p> <p><b>Determinación del efecto cicatrizante.</b></p> <p><b>Análisis estadístico.</b> La diferencia significativa existente entre los tratamientos será evaluada mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 95%. Las comparaciones entre cada tratamiento se harán con la Prueba HSD de Tukey, para cuyo efecto se recurrirá al uso del programa SPSS versión 20.</p>