

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

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



**Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los
tallos de *Equisetum bogotense* Kunth. "cola de caballo".**

Ayacucho - 2012

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE

QUÍMICO FARMACEÚTICA

PRESENTADO POR:

Bach. CASTRO GUTIERREZ, JACKELINE

AYACUCHO – PERÚ

2013

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D.Nº 115-13-UNSCH-FCB-D

Bach. Jackeline Castro Gutierrez

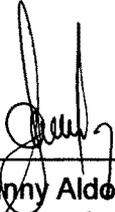
En la ciudad de Ayacucho, a los dieciséis días del mes de agosto del año dos mil trece, en el auditorium de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH, siendo las cuatro de la tarde, los miembros del jurado calificador, bajo la presidencia de la Biga. Laura Aucasime Medina en representación del Decano de la Facultad por encargo según memorando N° 449-2013-UNSCH-FCB e integrado por los siguientes docentes: Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo, Biga. Laura Aucasime Medina y Mg. Edgar Cárdenas Landeo, actuando como secretario docente por encargo, el Mg. Edgar Cárdenas Landeo para recepcionar la sustentación de la tesis titulada “Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”, Ayacucho-2012” presentado por la bachiller en Farmacia y Bioquímica Jackeline Castro Gutierrez quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutica.

Como primer acto el Presidente del Jurado calificador dió instrucciones a la sustentante para su exposición, el que no debe extenderse de cuarenta y cinco minutos. Culminada la exposición el Presidente solicitó la participación de los miembros del jurado calificador, para realizar sus observaciones, preguntas o aclaraciones que crean por conveniente para realizar la calificación correspondiente.

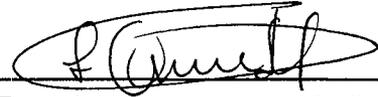
Los miembros del jurado calificador participan en el siguiente orden: Mg. Edgar Cárdenas Landeo, Biga. Laura Aucasime Medina como cuarto jurado y finalmente el Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo como asesor. Culminada la fase de participación de los miembros del jurado calificador, el presidente de la misma invita a la sustentante y al público asistente a abandonar el auditorium, para que el jurado calificador pueda deliberar y realizar su calificación en privado, obteniéndose la siguiente calificación:

Jurado calificador	Exposición	Repuesta a preguntas	Promedio
Biga. Laura Aucasime Medina	15	15	15
Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo	17	17	17
Mg. Edgar Cárdenas Landeo	15	15	15
		Promedio Final	16

De la evaluación realizada, la sustentante obtuvo la nota promedio de dieciséis (16) de la cual dan fé los miembros del Jurado Calificador, estampando la firma al pie del acta. Culminó el acto de sustentación siendo las cinco y cincuenticinco de la tarde.



Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo
Miembro-Asesor



Biga. Laura Aucasime Medina
Miembro-Presidente (e)



Mg. Edgar Cárdenas Landeo
Miembro-Secretario (e)

DEDICATORIA

A Dios y a mis padres

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi *Alma Mater*, forjadora de excelentes profesionales al servicio de la sociedad y del país.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, a sus docentes por brindarme sus conocimientos, enseñanzas y orientarme durante mi formación profesional.

A mi asesor el Dr. Q.F. Johnny Aldo Tinco Jayo, y a las personas que me brindaron su apoyo para que este trabajo pudiera llevarse a cabo y por concederme el honor de compartir conmigo este logro.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Equisetum bogotense</i> Kunth	4
2.3. Metabolitos secundarios relacionados con la cicatrización	7
2.4. Cicatrización	10
2.5. La piel	11
2.6. Heridas	12
2.7. Cicatriz	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	19
3.2. Población y muestra	19
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	19
3.4. Diseño experimental	22
3.5. Determinación de la irritabilidad dérmica primaria	23
3.5. Análisis estadístico	24
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	30
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES	36
VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	39

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Diseño experimental de la actividad cicatrizante	23
Tabla 2. Resultados de los metabolitos secundarios	26
Tabla 3. Valores de irritabilidad según la escala de Draize	29

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura básica de una Flavanona	8
Figura 2. Estructura básica de un Tanino	9
Figura 3. Volumen de resistencia a la tensión de los tratamientos	27
Figura 4. Porcentaje de actividad cicatrizante según tratamientos	28

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de la identificación taxonómica	40
Anexo 2. Análisis de varianza del volumen de resistencia a la tensión	41
Anexo 3. Análisis de varianza del porcentaje de la actividad cicatrizante	42
Anexo 4. Prueba de tukey del porcentaje de la actividad cicatrizante	43
Anexo 5. Características de los metabolitos secundarios	44
Anexo 6. Protocolo del procedimiento metodológico	45
Anexo 7. <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo"	46
Anexo 8. Extracto hidroalcohólico seco	47
Anexo 9. Flujoograma de preparación del extracto hidroalcohólico	48
Anexo 10. Manipulación del extracto hidroalcohólico seco	49
Anexo 11. Tubos de ensayo del screening fitoquímico	50
Anexo 12. <i>Mus musculus</i> "ratones" albinos machos	51
Anexo 13. Depilación del lomo de <i>Mus musculus</i> "ratón"	52
Anexo 14. Preparación del pentobarbital sódico	53
Anexo 15. Equipo tensiómetro	54
Anexo 16. Determinación de la irritabilidad dérmica	55
Anexo 17. Matriz de consistencia	56

RESUMEN

Las heridas crónicas son de difícil cicatrización, son un reto para los profesionales de la salud y un problema de salud pública dados los altos costos y la morbilidad que generan. El tipo de investigación fue básica experimental. El objetivo fue determinar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth, realizado durante los meses de octubre del 2012 a febrero del 2013. Las muestras de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth fueron recolectados en el distrito de San Miguel, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho. Para la determinación del efecto cicatrizante se utilizó el test de cicatrización propuesta por Howes.¹ Para esta prueba se utilizaron 25 “ratones” *Mus musculus*, de 25 a 30 g de peso que fueron divididas en cinco grupos al azar, a los cuales se les administraron tópicamente cada 12 horas, el extracto hidroalcohólico de 100 mg/kg, 150 mg/kg, y 200 mg/kg se utilizó como blanco (agua destilada) y un estándar (Dermaclín Plus). En el screening fitoquímico propuesto por Miranda y Cuellar,² los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico fueron: alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos, catequinas, cumarinas, quinonas. Para la determinación de la irritabilidad dérmica se utilizó cinco animales *Oryctolagus cuniculus* “conejos” albinos a los cuales se les aplicó las cremas a base del extracto hidroalcohólico de 1,0 %, 2,0 % y 3,0 %, en periodo de 24 horas. Se obtuvieron los porcentajes de actividad cicatrizante que fueron a 100 mg/kg con 23,04 %, 150 mg/kg con 54,66 %, 200 mg/kg con 86,15 % y el Dermaclín Plus con 37,29 %. La mayor actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” se presentó a una concentración de 200 mg/kg con 86,15 %, al realizar la prueba de irritabilidad dérmica en la escala de Draize,³ no presentó irritabilidad dérmica. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth presenta actividad cicatrizante.

Palabras clave: *Equisetum bogotense* Kunth, actividad cicatrizante.

I. INTRODUCCIÓN

Muchos investigadores y comunidades médicas buscan mejorar el cuidado de una herida con miras a promover la cicatrización pero el estudio de sustancias completamente efectivas es aún un misterio científico.⁴

Principalmente porque la cicatrización es un proceso complejo que incluye un sin número de eventos que resultan de la interrelación de diferentes estructuras celulares. Esta inicia con una respuesta inmunológica que se amplifica y tiende a evitar que las heridas tengan complicaciones posteriores, adicionalmente, a la cicatrización favorece otros mediadores como son la inflamación, la proliferación celular y la reepitelización, conducen al cierre de la herida.⁵

El mundo dispone de una variedad de productos naturales que se presentan como fuente de moléculas con un potencial en el tratamiento de múltiples patologías. El Perú es el primer país en diversidad de especies vegetales que además son utilizadas, en gran parte, en la medicina tradicional permitiendo que su uso sea fácilmente comercializado a bajos costos.⁶

El *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” tiene un alto contenido en silicio. Es reafirmante, estimulante por lo que es habitual utilizarla en la cicatrización porque ayuda en la vasoconstricción, deteniendo el sangrado ayudando que se regenere más rápido la piel.⁷

Rescatando la información tradicional de nuestros pueblos y haciendo posible su

integración a la medicina científica, se busca que los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” sirva como una alternativa para el tratamiento de heridas como cicatrizante.

Por tal motivo, se plantea el presente trabajo de investigación teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”.

Objetivos específicos

- Realizar el screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”.
- Determinar la concentración de mayor actividad de cicatrización del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”.
- Realizar la irritabilidad dérmica del extracto hidroalcohólico *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” en animales *Oryctolagus cuniculus* “conejos” albinos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

El *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”, es una especie vegetal utilizada en medicina tradicional en el noroccidente de Colombia para la cicatrización de heridas ⁸, sus estudios están centrados en evaluar su estudio biológico de la actividad cicatrizante de esta planta representa una promisoría herramienta para el avance no solo del conocimiento de la flora colombiana sino también de las opciones de tratamiento de heridas abiertas y así aporta a la solución de problemas de salud pública. Además, permite dar uso racional a las plantas, optimizando tratamientos y favoreciendo a poblaciones con pocos recursos económicos que confían en los productos derivados de la medicina tradicional.⁸

El *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” se ha usado tradicionalmente en Europa como un diurético para el tratamiento de edemas (hinchazón/retención de fluidos).⁷

El panel de la Comisión Alemana de Expertos ha aprobado *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” como diurético. También se usa a menudo en el tratamiento de la osteoporosis, nefrolitiasis (cálculos en los riñones), infección del tracto urinario y cicatrización de heridas (ungüento tópico). También se utiliza en cosméticos y champúes.⁹

Es bien conocido que las plantas medicinales constituyen una fuente inagotable de principios activos que en algunos casos son extraídos directamente para su empleo en terapéutica como es el caso del *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” que por la gran cantidad de taninos, flavonoides sirven para la curación de heridas ya sean internas o externas.¹⁰

Quispe,¹¹ realizó análisis fitoquímico y determinación de la actividad cicatrizante del *Xanthosoma brevispathaceum* “empoqro” en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, llegando a la conclusión de que existe una cantidad considerable de taninos, por lo cual se observaron claramente actividad cicatrizante.

Kuklinski,⁹ nos menciona que el *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” debido a la elevada presencia de silicio orgánico actúa regenerando los tejidos ya que el silicio se encuentra en la piel (contribuye el mantenimiento del colágeno), las uñas, los cartílagos y los huesos. Aumenta las defensas específicas del organismo, es astringente, antidiarreico y cicatrizante debido a los taninos que presenta.

2.2. *Equisetum bogotense* Kunth

2.2.1. Clasificación taxonómica

La planta de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” tiene la siguiente clasificación.

DIVISIÓN : ARTROPHYTA
CLASE : EQUISETINEA
ORDEN : EQUISETALES
FAMILIA : EQUISETACEAE
GÉNERO : *Equisetum*
ESPECIE : *Equisetum bogotense* Kunth.
NOMBRE VULGAR : “cola de caballo”

Fuente: Certificado emitido por el Herbarium huamanguensis (Anexo1).

2.2.2. Descripción botánica

Planta vascular inferior, las hojas, pequeñas y escuamiformes, se agrupan en verticilos sobre los nudos, las bases de las hojas están soldadas formando un collar que rodea completamente el tallo, inmediatamente por encima del nudo.

Cada hoja tiene un único nervio que forma una costilla central y presenta estomas en su epidermis inferior. Normalmente las hojas son verdes cuando son jóvenes, pero se van decolorando y blanqueando con la edad. La mayor parte de la función fotosintetizadora corre a cargo del tallo. El número de ramas que parten de cada nudo suele ser igual al número de hojas. En los nudos del rizoma se producen raíces, éstas son adventicias y parten de la superficie inferior de los primordios de las ramas. La elevada cantidad de sílice que se deposita sobre la pared celular confiere al tallo su tacto áspero. Los esporangios, dispuestos periféricamente, están dirigidos hacia el eje; su número varía de cinco a diez por esporangióforo, la pared madura del esporangio, monoestratificada, se rompe siguiendo una fisura longitudinal para permitir la dispersión de las esporas. Las esporas del *Equisetum*, son de un solo tipo, presentan un diámetro variable, de unas 30 a 40 micras. Las esporas tiernas también contienen numerosos cloroplastos, las esporas son de vida corta, y en condiciones adecuadas germinan dando prótalos pequeños, verdes y lobulados.¹²⁻¹³

2.2.3. Composición química

Los tallos contienen los ácidos silícicos, saponinas flavonoides, taninos, alcaloides, cumarinas, derivados del kanferol y trazas de colesterol. Según Casparis y Hass (en Pharmaceutica Acta Helvética número IX, 1931) contiene también el glucósido saponínico llamado equisetónósido, y tres eterósidos flavónicos, los galuteolósido, isoquersetósido, y equisetósido entre otros.¹⁴

En el equiseto en estado fresco, según Gaurdarden,¹¹ nos menciona que el total

de ácido silícico oscila entre 3,21 % y 16,25 % y es soluble, en las plantas jóvenes, la proporción de ácido silícico soluble comparado con el ácido silícico total es mayor que en las plantas más maduras.¹²⁻¹⁴

2.2.4. Propiedades y usos medicinales

Es una planta primitiva, de manera que no tiene ni frutos ni flores. Es muy rica en sales minerales, sobre todo en silicio y potasio.

Desde tiempos remotos la cola de caballo ha sido considerada como uno de los más valiosos diuréticos conocidos en la naturaleza. Gracias a su aporte de minerales, es remineralizante, hemostática y antianémica. Muy útil en casos de desmineralización, raquitismo, osteoporosis, rupturas de huesos, hemorragias de cualquier naturaleza, menstruaciones abundantes y hemorroides sanguinolentas. Tiene un efecto excelente en hemorragias del estómago, pulmones y útero.¹⁴

Aplicada sobre llagas y heridas, la cola de caballo actúa como cicatrizante, detiene las hemorragias. El silicio y el calcio contenidos en la planta regeneran las células de los tejidos afectados, acelerando la curación. Son estos dos minerales los que hacen de esta planta muy útil para curar afecciones cutáneas; la infusión se puede utilizar como loción antiedad y para reforzar el pelo debilitado.⁹

En medicina doméstica, la forma más fácil de administrar la cola de caballo como diurético, es recomendada por el doctor Leclerc: El cocimiento de 30 a 50 g de la planta seca hervida durante media hora en medio litro de agua. Se deja enfriar, se cuela y está listo para ingerir.¹²

Se indica en edema postraumático, para incrementar diuresis (terapia de lavado) en afecciones infecciosas e inflamatorias de las vías urinarias (vía oral) y como ayuda en la cicatrización de heridas y úlceras tórpidas, en uso tópico. Tradicionalmente se ha utilizado en tizanas para aumentar la diuresis,

frecuentemente como coadyuvante en el tratamiento de sobrepeso.¹⁵

Incrementa la actividad de los riñones y por tanto la eliminación de la orina, combate la retención de agua, el exceso de ácido úrico y el reumatismo gotoso, purificador de la sangre, en afecciones del estómago, menstruaciones excesivas, almorranas sangrantes, vómitos de sangre por tuberculosis, etc. Útil contra la bronquitis. Al interior en infusión, a razón de una cucharada por taza, al exterior, los tallos triturados en forma de cataplasma, en las congestiones y dolores reumáticos, neurálgicos y ciáticos.¹⁶

Contra diarreas, disentería, hemorragias intestinales y de la matriz, ictericia, enfermedades del hígado y el bazo, se toma como refresco el cocimiento de cola de caballo. Se pone un pedazo del tamaño del dedo grande, para cada botella de agua.¹⁶

Para el sudor excesivo y mal olor de los pies, nada mejor que la tintura de cola de caballo, con la que todos los días se deben impregnar los pies, después de lavarlos y secarlos bien.¹⁶

2.2.5. Hábitat y distribución geográfica

Son plantas perennes, crece al borde de los ríos, en los sotos, en el fondo de los barrancos húmedos y sombríos de la mayor parte del país, desde el extremo oriental de los Pirineos hasta Galicia, y desde todo el norte a la península hasta Andalucía y el Algarbe; vive también en las islas Baleares. Prefiere las tierras sin cal y las comarcas lluviosas.¹²

2.3. Metabolitos secundarios relacionados con la cicatrización

a. Flavonoides

El primer flavonoide sintetizado por la "vía biosintética de los flavonoides" es una chalcona, cuyo esqueleto es un anillo bencénico unido a una cadena propánica que está unida a su vez a otro anillo bencénico. En la mayoría de los flavonoides, la cadena de reacciones continúa, por lo que la cadena carbonada

que une los anillos aromáticos se cicla por acción de una enzima isomerasa, creando una flavanona.⁹

Los heterósidos de flavonoides, hidrosolubles, se acumulan en las vacuolas y, según las especies, se concentran en la epidermis de las hojas o se reparten entre la epidermis y el mesófilo, en el caso de las flores, se concentran en las células epidérmicas. Cuando los flavonoides se encuentran en la cutícula foliar, se trata casi siempre de geninas libres cuya lipofilia se incrementa por la metilación, parcial o total, de los grupos hidroxilo. Esto se refiere sobre todo a plantas de regiones semiáridas, generalmente provistos de estructuras secretoras.¹⁷

El principio activo: galuteolósido, isoquersetósido, y equisetósido, todos los flavonoides poseen las características de ser polifenólicos y solubles en agua. Poseen un máximo de absorción de luz a los 280 nm.¹²

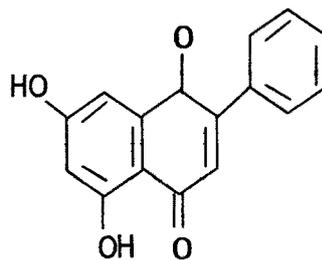


Figura 1. Estructura básica de una flavanona

b. Taninos

El término tanino fue originalmente utilizado para describir ciertas sustancias orgánicas que servían para convertir a las pieles crudas de animales en cuero, proceso conocido en inglés como *tanning* ("curtido"). Se extraen de las plantas con agua o con una mezcla de agua y alcohol, que luego se decanta y se deja evaporar a baja temperatura hasta obtener el producto final. Los taninos tienen un ligero olor característico, sabor amargo y astringente, y su color va desde el amarillo hasta el castaño oscuro. Expuestos al aire se tornan oscuros y pierden

su efectividad para el curtido. Los taninos se utilizan en el curtido porque reaccionan con las proteínas de colágeno presentes en las pieles de los animales, uniéndolas entre sí, de esta forma aumenta la resistencia de la piel al calor, a la putrefacción por agua, y al ataque por microbios.¹²

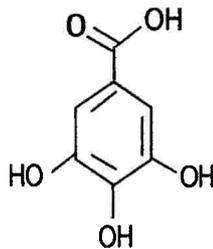


Figura 2. Estructura básica de un tanino

c. Alcaloides

Los alcaloides en sentido amplio son los compuestos que provienen de cualquier ser vivo que contienen nitrógeno básico. Un alcaloide, según Winterstein y Trier,¹⁸ debe cumplir los siguientes requisitos:

Presentar un nitrógeno básico

El nitrógeno debe estar incluido en un sistema heterocíclico

Estructura compleja

Actividad farmacológica potente

Distribución restringida a las plantas.

d. Sales minerales

Las sales minerales son moléculas inorgánicas de fácil ionización en presencia, de agua y que en los seres vivos aparecen tanto precipitadas, como cristales o unidas a otras biomoléculas.

Las sales minerales disueltas en agua siempre están ionizadas. Estas sales tienen función estructural y funciones de regulación del pH, de la presión osmótica y de reacciones bioquímicas, en las que intervienen iones específicos. Participan en reacciones químicas a niveles electrolíticos.¹²

e. Saponinas

Las saponinas son heterósidos que se caracterizan por su capacidad para producir espuma cuando se agita una solución acuosa que la contiene. Se forma espuma debido a que las saponinas disminuyen la tensión superficial del agua. Son por lo tanto tensioactivos naturales, la estructura química de las saponinas, son estructuras formadas por una parte glúcida (azúcar) y una parte no glucídica (aglicon) denominado sapogenina. Son heterósidos unidades de azúcar pueden ser neutras o ácidas.⁹

2.4. Cicatrización

Cicatrización es el conjunto de procesos biológicos, físico-químicos y celulares que se producen como respuesta de los tejidos a una lesión y tiene como finalidad, obtener la recuperación funcional de los mismos, mediante la formación de un tejido fibroso.¹⁹

2.4.1. Tipos de cicatrización

a. Cicatrización por primera intención

El cierre primario solo es aconsejable en los cortes relativamente limpios con mínima contaminación y mínima pérdida de desvitalización tisular. Estas heridas están causadas con más frecuencia por fuerzas de corte. Pueden cerrarse con suturas, cintas adhesivas o grapas. La reparación de las heridas es óptima cuando se lleva a cabo en el plazo de seis horas;(denominado con frecuencia el “periodo de oro”) desde la lesión.²⁰

b. Cicatrización por segunda intención

Los infartos y úlceras cutáneas, cavidades de abscesos, punciones, mordeduras de animales pequeñas sin relevancia estética y abrasiones de grosor parcial (conservación de la base dérmica) cicatrizan mejor por segunda intención. No se cierran con suturas y se permite su cicatrización gradual por granulación y finalmente revitalización. Después de un programa apropiado de tratamiento de la herida, puede convertirse en candidatas a cobertura cutánea diferida, si es

necesario, con injerto. Estas heridas presentan una respuesta inflamatoria pronunciada y son propensas a una contracción significativa de la herida con el tiempo.²¹

c. Cicatrización por tercera intención

Ciertas heridas son candidatas al cierre tras limpieza, desbridamiento y observación durante cuatro a cinco días. Se trata de heridas demasiado contaminadas para un cierre primario, pero que no presentan una pérdida o desvitalización tisular relevante. Las heridas de este tipo suelen ser antiguas, con contaminación excesiva por tierra, heces, saliva o secreciones vaginales, causadas por mordedura animal o humana o como consecuencia de proyectiles de alta velocidad, como las balas. Las heridas creadas tras la exploración para localizar y extraer cuerpos extraños también son candidatas.²¹

2.5. La piel

Tiene como función principal proteger al organismo contra los factores nocivos del medio exterior. Mientras que la piel sana constituye un tejido resistente a toda clase de sustancias, la inflamada es muy sensible y fácilmente irritada por cualquier agente; lo mismo sucede con las mucosas. Por esta razón es primordial en esos casos proteger dichas estructuras de los agentes químicos, físicos o infecciosos; en esta forma, la medicación tópica o local facilita la curación de los procesos inflamatorios.²²

2.5.1. Fisiología de la piel

La piel protege al cuerpo frente al medio ambiente y evita las pérdidas excesivas de proteínas, electrolitos, agua y calor. Es uno de los órganos más voluminosos, tiene un área de unos 1,8 m² y constituye el 16% del peso corporal. Está formada por la epidermis, la dermis y la hipodermis.²³

a. Epidermis

La epidermis es un epitelio pavimentoso estratificado, de un espesor medio de

20 mm, cuyas células se diferencian lentamente desde el interior hasta la superficie por el proceso de queratinización en ella se encuentran cuatro tipos de células: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel.²⁴

b. Dermis

Es un tejido conjuntivo vascular y con abundantes terminaciones nerviosas. Este tejido conectivo se caracteriza por contener células y sustancias extracelulares, en su mayoría secretadas por uno de los tipos celulares (los fibroblastos) y que en condiciones normales constituyen una porción del tejido mayor que las células. En conjunto, las sustancias extracelulares se denominan matriz extracelular (MEC) compuesta por fibras incluidas en una matriz amorfa que contiene líquido tisular. Las fibras del tejido conectivo se dividen en tres tipos, fibras de colágeno, reticulares y elásticas.²⁴

c. Hipodermis

Representa el estrato más profundo de la capa corporal exterior, está compuesto por tejido conjuntivo laxo.²⁵

2.6. Heridas

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.²³

2.7. Cicatriz

Es una masa de colágeno que se produce cuando no es posible reparar la

necrosis de células parenquimatosas por regeneración. Si se destruyen las células hasta la capa basal de la dermis o epidermis, sucede una reparación con formación de cicatriz.²⁵

2.8. Fases de la cicatrización

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. Inicialmente se adhieren las plaquetas al intersticio, donde la trombina y el colágeno fibrilar expuesto las activan, 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, actuando como puente de unión entre el colágeno sub endotelial y el receptor plaquetario de integrina $\text{aIIb}\beta_3$ y el Adenosin difosfato y la trombina que atraen más plaquetas a la zona lesionada. Todo esto da lugar a la agregación plaquetaria y a la formación de un tapón hemostático. Las plaquetas también sintetizan factores de crecimiento: el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento transformador- β (TGF- β) con acción mitógena y quimiotáctica en los fibroblastos, el factor de crecimiento transformador- α (TGF- α) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimulan la epitelización. En forma simultánea el endotelio produce prostaciclina, que inhibe la agregación, lo cual limita el proceso, la antitrombina III, inhibe la formación de fibrina, la proteína C, inhibe al factor VIII y limita la adhesión y el activador del plasminógeno y la plasmina son relevantes en la lisis

del coágulo.²⁶

B. Fase II – Inflamatoria

Durante la fase inflamatoria ocurre un proceso de coagulación que detiene la pérdida de sangre (hemostasis), además se liberan varios factores para atraer células que fagociten residuos, bacterias, tejido dañado y liberen factores que inicien la fase proliferativa de la cicatrización de heridas.¹⁷

a. Cascada de coagulación.- La sangre toma contacto con el colágeno, lo que provoca que las plaquetas de la sangre comiencen a secretar factores inflamatorios. La fibrina y la fibronectina se enlazan y forman una red o tapón que atrapa proteínas y partículas evitando la pérdida de sangre. Este tapón de fibrina-fibronectina constituye el principal soporte estructural de la herida hasta que se deposite el colágeno. El coágulo es eventualmente degradado por lisinas y reemplazado por tejido granular y posteriormente por colágeno.¹⁷

b. Plaquetas.- Son fragmentos de células que intervienen en el proceso de coagulación, confluyen en el mayor número al producirse una herida y liberan una serie de sustancias en la sangre, incluidas proteínas, citoquinas y factores de crecimiento, también liberan factores que favorecen la inflamación como son: serotonina, bradiquinina, prostaglandinas, prostaciclina, tromboxano e histamina; que aumentan la velocidad de la migración de células hacia la zona, favorecen a los vasos sanguíneos en el proceso de dilatación y aumento de porosidad.²⁰

c. Vasoconstricción y vasodilatación.- Inmediatamente al daño de un vaso sanguíneo, las membranas celulares dañadas liberan factores inflamatorios tales como tromboxano y prostaglandinas, estos hacen que el vaso se contraiga. Esta vasoconstricción dura de 5 a 10 minutos, seguida por una etapa de vasodilatación. El principal factor que desencadena la vasodilatación es la histamina.²⁰

d. Leucocitos polimorfo nucleares.- Al cabo de una hora de haberse producido la herida, los leucocitos polimorfo nucleares o granulocitos llegan a está y se convierten en las células más abundantes en la zona de la herida durante los próximos tres días. Las fibronectina, los factores de crecimiento y sustancias tales como neuropecticos y quininas son los que lo atraen a la herida. Los granulocitos fagocitan los residuos y bacteria.²⁰

e. Macrófagos.- Son células con función fagocitaria, dos días de producida la herida, los macrófagos son más abundantes en la zona de herida. Los monocitos del torrente sanguíneo son atraídos a la zona de la herida por los factores de crecimientos liberados por las plaquetas y otras células.

Una vez en la zona de la herida, los monocitos maduran y se transforman en macrófagos, que es la principal célula responsable de limpiar la zona de bacterias y residuos.²⁰

C. Fase III– Proliferativa o de granulación

Luego de transcurridos de dos a tres días desde la ocurrencia de la herida, comienza la afluencia de los fibroblastos en la cicatriz, marcan el comienzo de la fase proliferativa aún antes de que la fase inflamatoria haya concluido. Al igual que las otras fases de cicatrización los pasos en la fase proliferativa no tiene lugar en forma sucesiva sino que los mismos ocurren simultáneamente.²⁰

a. Angiogénesis.- También llamado neovascularización tiene lugar simultáneamente con la proliferación de fibroblastos, cuando las células endoteliales migran hacia la zona de la herida.²⁰

b. Fibroplasia y formación de tejido granular.- En forma simultánea con la Angiogénesis, comienza la acumulación de fibroblastos dos a cinco días después de la herida. Así, el final de la primera semana, los fibroblastos son las células que se presentan con mayor abundancia en la cicatriz. La fibroplasia finaliza luego de unas dos a cuatro semanas luego de ocurrida la herida.²⁰

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 la melopodios hacia la herida; y la expresión de citoqueratina 6 y 16, las cuales son marcadores del estado activo; estos procesos conllevan a la pérdida de unión de las células epidérmicas entre sí, a la membrana basal y a la dermis subyacente, permitiendo su migración. 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 ($\alpha 2$ - $\beta 1$) y la liberación de TGF α /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 α , PDGF/ FGF, etc.) y al “efecto borde” (ausencia de células vecinas en aposición que dispararía el estímulo proliferativo en los márgenes de la herida). Para que el queratinocito finalice su proceso de migración y proliferación existen varias señales: el INF 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 para iniciar nuevamente la

diferenciación y la reparación de la membrana basal con el nuevo depósito de laminina, también es una señal que le indica que la herida ya está reparada y no hay necesidad de migrar. De igual forma es importante aclarar que en la piel sana, los queratinocitos no están en contacto con los colágenos de la membrana basal (IV y VII) o de la dermis (I, III y V) que son activadores de la migración y si lo están con la laminina de la lámina lúcida, la cual inhibe la migración de éstos.²⁶

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. Posteriormente, el colágeno tipo III es reemplazado por el de tipo I, siendo éste más estable y similar al original. La degradación del primer colágeno se debe a la acción de las metaloproteinasas de la matriz (colagenasas, gelatinasas y estromalinasas), cuya actividad depende de los iones de zinc y que son estimuladas por factores de crecimiento y la matriz extracelular. Como se ha descrito, 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, este colágeno neoformado se une a través de enlaces covalentes cruzados con haces del borde de la herida y con haces de la dermis adyacente, 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. En el último día de la cicatrización los fibroblastos inician su proceso de apoptosis, estableciéndose una transición de una cicatriz rica en fibroblastos y tejido de granulación, a una cicatriz acelular. Al final del proceso la actividad celular disminuye y el tejido conjuntivo cicatrizal se torna rico en colágeno, pobre en células y vasos, sin folículos pilosos y sin glándulas sudoríparas ni sebáceas. La dermis recupera la composición previa a la lesión y alcanza una resistencia máxima del 70 % comparada con el tejido previo y la reparación de la herida se considera finalizada; en una herida de espesor completo hay reducción del tamaño en un 40 % respecto del tamaño original.²⁶

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de farmacología del área Académica de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de setiembre del 2012 a febrero del 2013.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población. Tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” del distrito de San Miguel, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho, ubicado a 2550 m.s.n.m.

3.2.2. Muestra. Constituido por 2 kg de los tallos secos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”.

3.2.3. Animales de experimentación. Estuvo conformada por 25 animales *Mus musculus* “ratones” con un peso de 25 a 30 g que fueron adquiridos con una semana de anticipación, provenientes del Instituto Nacional de Salud (Chorrillos-Lima).

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Procedimiento para la recolección

Se tomó en cuenta el uso tradicional de los tallos aéreos de la especie vegetal en estudio, se recolectó en plena reproducción por la mañana, los tallos mas

verdes y en buenas condiciones para su posterior traslado y preparación del herbario e identificación en el laboratorio de Botánica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

a. Secado

Los tallos fueron secados a temperatura ambiente por 30 días previa selección y limpieza de las mismas, bajo sombra adecuadamente acondicionada teniendo como base papel Kraft, que se cambiaron constantemente volteando la muestra para un secado uniforme y evitar el deterioro por la humedad.

b. Molienda

La muestra se trituró empleando un molino, con la finalidad de reducir de tamaño hasta obtener un polvo fino.

3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico

El extracto hidroalcohólico se obtuvo por maceración durante dos semanas de 2 kg de muestra seca y molida, se maceró en frascos de color ámbar por un período de dos semanas aproximadamente en alcohol de 70° cubriendo la muestra unos 5 cm. Durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se procedió a filtrar y concentrar en una estufa a 40°C, hasta obtener un extracto seco.

3.3.3. Tamizaje fitoquímico

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuellar.² (Anexo 5).

3.3.4. Preparación de las concentraciones

Se utilizó crema como base cuyos componentes fueron: ácido esteárico, aceite de parafina, alcohol cetílico, trietanolamina y propilenglicol. Se preparó el extracto hidroalcohólico al 1 %, 2 %, y al 3 % con la finalidad de que exista una mejor adherencia, permanencia y absorción del extracto en la zona de sutura de

los ratones (Anexo 9).

3.3.5. Determinación del efecto cicatrizante, según el test de cicatrización

Método experimental: El método que usó fue el propuesto por Howes¹, que se basa en el fundamento del test de cicatrización.

Procedimiento:

1. Se depiló el lomo de los animales *Mus musculus* "ratones" albinos machos en un área aproximada de 2 cm², 24 horas antes del test, con el fin de evitar alguna reacción alérgica a la crema depiladora.
2. Se pesó y distribuyó aleatoriamente en un lote dividido en cinco grupos cada grupo con cinco animales *Mus musculus* "ratones" albinos machos y se les colocó en jaulas individuales.
3. Se anestesió al animal con pentobarbital sódico "halatal" (1ml/2,5 kg), por vía intraperitoneal.
4. Luego se desinfectó el área depilada para realizar la incisión de un centímetro de largo en el tercio del lomo y perpendicular al eje longitudinal del animal *Mus musculus* "ratón" albino macho.
5. Se afrontaron los bordes de la herida con un punto de sutura de nudo triple.
6. Se administró en forma tópica la primera dosis del tratamiento, esto se repitió cada 12 horas hasta el término del periodo de aplicación.
7. Pasadas las 72 horas se procedió a sacrificar al animal *Mus musculus* "ratón" con una sobre dosis de pentobarbital sódico.
8. Posteriormente al sacrificio, se quitó el punto de sutura y se colocó al animal en posición de cubito ventral sobre el aparato de tensión.
9. Se insertaron las agujas del aparato de tensión a 0,5 cm de los bordes de la herida, se empleó una bureta (enrasada con agua destilada) para dejar caer el agua al vaso hasta generar una tensión que abra la herida en toda su longitud.

10. Se anotó el volumen alcanzado.

11. Luego se determinó el porcentaje de la actividad cicatrizante.

El porcentaje de actividad se obtuvo por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Act.} = \frac{X_{\text{tto}} - X_c}{X_c} \times 100$$

Dónde:

%Act.= Porcentaje de actividad cicatrizante.

X_{tto} = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado.

X_c = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado con crema base

3.4. Diseño experimental

Se preparó cinco grupos experimentales, cada uno con cinco ratones distribuidos al azar. El primer grupo fue el blanco, al cual se le administró agua destilada, el segundo grupo fue el control al cual se administró Dermaclín Plus, al tercer grupo se administró el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo" de 100 mg/kg, al cuarto grupo se le administró el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo" de 150 mg/kg y al quinto grupo se le administró el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo" de 200 mg/kg.

Tabla 1. Diseño experimental de la actividad cicatrizante.

Tratamientos	Blanco	Control (Dermaclin Plus)	Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo"		
			100 mg/Kg	150 mg/Kg	200 mg/Kg
Lote I	X				
Lote II		X			
Lote III			X		
Lote IV				X	
Lotev					X

3.5. Determinación de la irritabilidad dérmica primaria

La irritación producida por una sustancia se midió por una técnica de prueba de parche sobre la piel escoriada e intacta del conejo albino.

El dorso del conejo se rasuró adecuadamente 3,0 x 3,0 cm aproximadamente y luego se colocó un parche cuadrado de gasa quirúrgica que midió 2,5 x 2,5 cm y con un grosor de dos mono capas el extracto a ensayar. Los animales se inmovilizaron con los parches asegurados en su lugar con tela adhesiva. Todo el tronco del animal se envolvió con un material impermeable, por un periodo de 24 horas.

A las 24 horas de exposición se quitó los parches, se evaluarón las reacciones resultantes mediante la escala de valores descrita por Draize³ para la evaluación de las lesiones de la piel.

X = 0 : No irritante.

0 < x < 2: Levemente irritante

2 < x < 6: Moderadamente irritante

6 < x < 8: Severamente irritante.

3.6. Análisis estadístico

Los resultados se expresan en tablas y figuras. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos son evaluados a través del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. Las comparaciones se hacen entre cada tratamiento a través de la Prueba de Tukey mediante el programa SPSS versión 17,0

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Resultados de los metabolitos secundarios

Metabolitos secundarios	Resultados
Alcaloides	
Dragendorff	+++
Mayer	+++
Wagner	+++
Catequinas	+
Lactonas y/o cumarinas	+
Saponinas	+++
Flavonoides	+++
Quinonas	+
Triterpenos y/o esteroides	+
Fenoles y/o taninos	+++

Leyenda:

Mínimo : (+)
Moderado : (++)
Intenso : (+++)

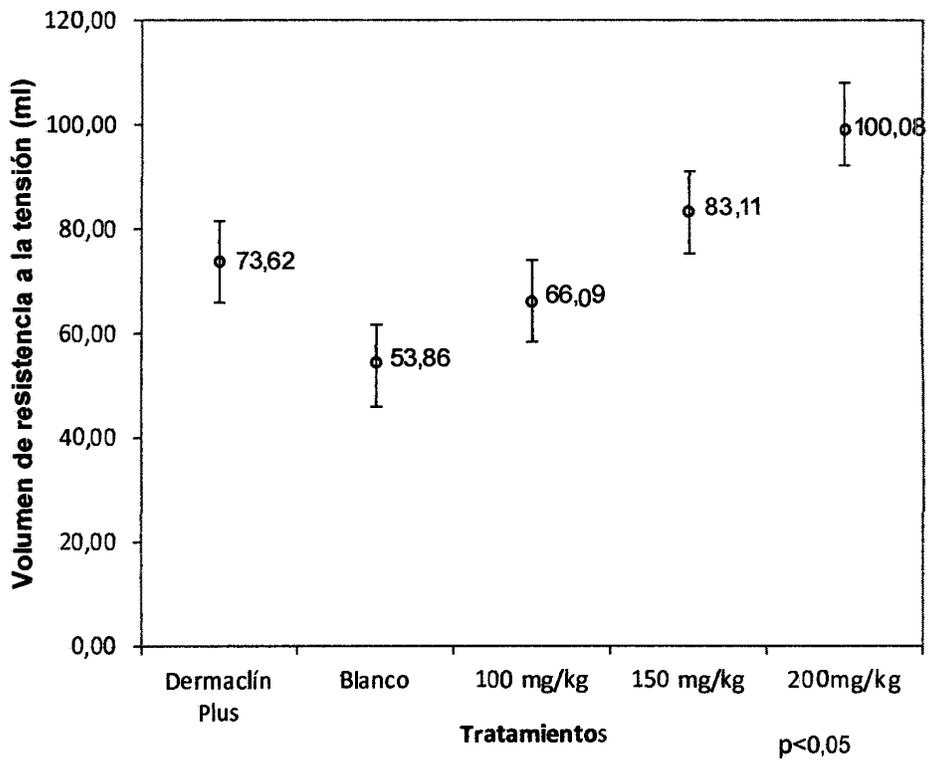


Figura 3. Volumen de resistencia a la tensión de los tratamientos

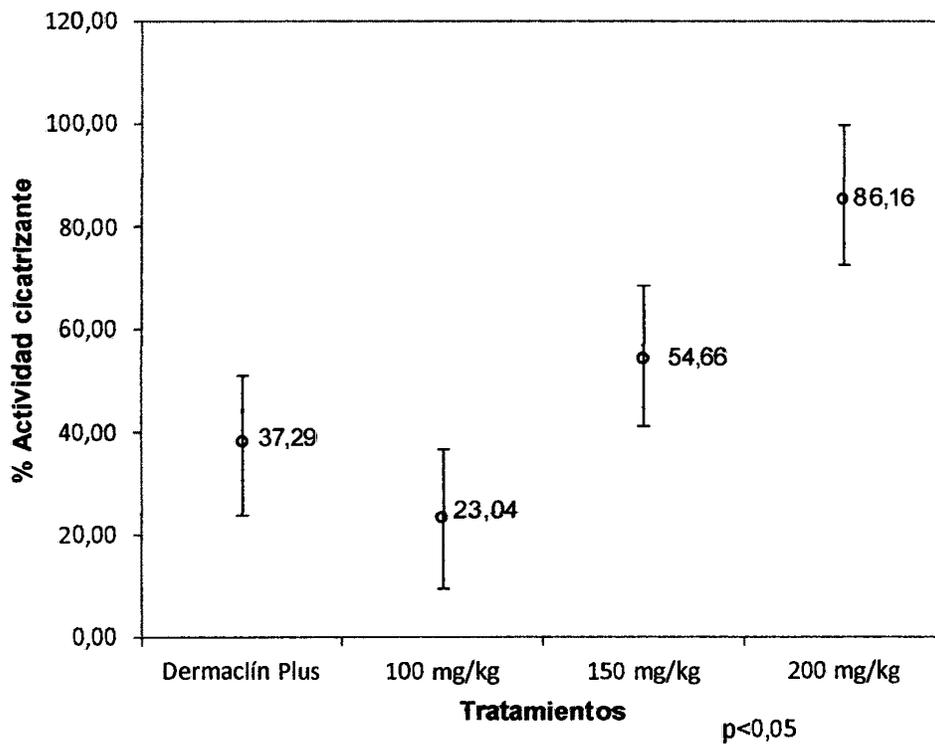


Figura 4. Porcentaje de actividad cicatrizante según tratamientos

Tabla 3. Valores de irritabilidad según la escala de Draize.

Parámetro	Fórmula	Resultados	
		Eritema	Edema
Irritabilidad dérmica primaria	Extracto hidroalcohólico 1%	0	0
	Extracto hidroalcohólico 2%	0	0
	Extracto hidroalcohólico 3%	0	0
	Dermaclín plus	0	0

V. DISCUSIÓN

El aprovechamiento de las plantas medicinales data desde la antigüedad según consta en diversos testimonios históricos pertenecientes a distintas civilizaciones y culturas que han ido sucediéndose en nuestro planeta; pues ellos constituyen la medicina más antigua y la más natural que ha permanecido vivo a través del tiempo. Estos recursos curativos vegetales están agrupados por categorías terapéuticas, de acuerdo a sus efectos farmacológicos seleccionados en razón de su uso común.²⁷

En el Perú la medicina tradicional es el resultado de lo que antiguamente los expertos dividían en medicina popular, medicina folklórica y medicina ancestral, donde se agrupa a todo un conjunto de conocimientos, para poder curar y prevenir las enfermedades físicas y del alma rescatándose a través de los tiempos y que cada pueblo o cultura ha sabido guardar o conservar.²⁸

Debemos tener en cuenta que para conocer nuestro presente es necesario apelar al estudio de nuestro pasado ²⁸. Por ende es necesario investigar y demostrar la efectividad terapéutica de la flora como consecuencia la validación de actividad cicatrizante de la especie en estudio de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo"

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 estructura relativamente compleja 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; son considerados artículos de lujo en la planta²⁹. Motivo por el cual el presente trabajo de investigación realiza la determinación de metabolitos secundarios mediante la marcha fitoquímica, de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”.

La capacidad de curación de heridas es también un tema complicado. El metabolito secundario más relacionado con el efecto cicatrizante son los taninos, los cuales son solubles en agua y en disolventes orgánicos polares como el alcohol.³⁰

En la Tabla 2 muestra los siguientes metabolitos secundarios: compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos en abundante proporción y en menor proporción, quinonas, triterpenos. La elevada presencia de silicio orgánico actúa regenerando los tejidos ya que el silicio se encuentra en la piel (contribuye al mantenimiento del colágeno), las uñas, el esmalte dental, los ligamentos, los cartílagos y los huesos. Aumenta las defensas específicas del organismo. Es astringente, antidiarréico y cicatrizante debido a los taninos que presenta.⁹

Lock,²⁹ demostró y corroboró que los metabolitos secundarios responsables del efecto farmacológico, son específicamente los taninos condensados (colores verde intenso) y flavonoides, corroborando así el screening fitoquímico realizado por Orozco,³¹ donde reporta la presencia de flavonoides, taninos, antraquinonas, alcaloides, triterpenos y lactonas comparando con los resultados realizados en *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” nos muestra casi los mismos metabolitos secundarios con la diferencia que en el extracto de

Equisetum bogotense Kunth “cola de caballo” también se encontró presencia de saponinas.

Kuklinski,⁹ nos menciona que algunos metabolitos secundarios coadyuvan a la acción de la luteolina y quercetina, los cuales participan en el proceso de cicatrización. La presencia de flavonoides, catequinas y taninos, confieren la propiedad cicatrizante, por tener capacidad de regenerar los tejidos.

En la Figura 3 se muestra el volumen de tensión por efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”, frente al Dermaclín Plus y el blanco mostrando que el extracto de concentración de 200 mg/ml presenta mayor volumen de tensión de 100,08 ml seguida de la concentración de 150 mg/ml con 83,11 ml, el Dermaclín Plus con 73,62 ml, el blanco con 53,86 ml por debajo del Dermaclín Plus. La concentración de 100 mg/ml con 66,09 ml, corroborando así con el estudio realizado sobre el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos *Equisetum arvense* L. “cola de caballo” de Orozco,³¹ que reportó a 50 mg/ml es de 40,10 ml, a 100 mg/ml es de 60,20 ml, a 150 mg/ml 75,12 ml, en comparación con el extracto hidroalcohólico de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” de 200 mg/ml con un 86,16 lo cual se concluye que por ser de la misma especie tienen muy parecidos resultados en el porcentaje de actividad cicatrizante, este efecto se debe a los metabolitos secundarios que se encuentran presentes en el extracto hidroalcohólico, podemos mencionar que los taninos cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y hemostática al detener el sangrado. La cicatrización se produce por la formación de las 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 ende a la curación de las heridas,³² los flavonoides son importantes para la salud de los vasos

sanguíneos. Regulan la permeabilidad del capilar, por eso detienen el flujo de proteínas y células de sangre, pero permiten el flujo de oxígeno, dióxido de carbono y otros nutrientes. Muchos flavonoides incrementan la fortaleza de los vasos, capilares, previniéndolos de cerrarse fácilmente. Esto es en parte debido a que ciertos flavonoides tienen una acción similar a la de la vitamina C.³³

En la Figura 4 muestra el porcentaje de actividad cicatrizante del extracto Hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” frente al Dermaclín Plus, obteniéndose un mayor porcentaje de actividad cicatrizante a concentración de 200 mg/ml con un 86,16 % seguido de la concentración de 150 mg/ml con 54,66 % y el patrón con 37,29 % mientras que, la concentración de 100 mg/ml presenta un porcentaje de 23,04 %, corroborando con el estudio realizado por Orozco³¹, sobre la Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos *Equisetum arvense* L. “cola de caballo” reportó que 50 mg/ml es de 15,80 % a 100 mg/ml es de 21,50 % a 150 mg/ml 50,24 %, es en comparación con el extracto hidroalcohólico de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” de 200 mg/ml con un 86,16 %, seguido de la concentración de 150 mg/ml con 54,66 % y la concentración de 100 mg/ml presenta un porcentaje de 23,04 % lo cual se concluye que por ser de la misma especie tienen muy parecidos resultados en el porcentaje de actividad cicatrizante.

Hay factores que pueden retardar el proceso de cicatrización como la presencia de bacterias en la herida, por nutrición inadecuada, por un estado patológico coexistente y por factores fisiológicos.³⁴

En la Tabla 3, nos muestra que en los conejos albinos tratados no se encontraron signos de irritación cutánea por lo que el índice de irritación primaria es de 0-0, mostrándose que a las 24 horas no se observó ningún tipo de eritema ni edema para la forma farmacéutica en estudio, de igual manera a

las 48 horas, por tanto, aplicando la escala de Draize se clasifican esta extracción hidroalcohólico como no irritantes.³⁵

Rodríguez,³⁵ menciona que dentro del campo de la toxicología se encuentra la toxicidad aguda que incluye el test de irritabilidad dérmica descrito por Draize, esta prueba brinda información sobre los efectos adversos que puede observarse luego de la aplicación dérmica del producto ofrece datos de toxicidad inicial para fines de regulación calificación, clasificación, transportación y estudios posteriores de toxicidad crónica y subcrónica dérmica del producto.

Laupa,³⁶ muestra que en el estudio realizado sobre la irritabilidad dérmica en conejos albinos utilizando para los tratamientos, de crema elaborada a base de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana" en la cual muestra como no irritante, comparado con el estudio realizado con cola de caballo también se muestra como no irritante en la piel del conejo. Por tanto se puede decir que en ambos trabajos no presenta ningún tipo de irritación según la tabla de Draize.

Agullo,³⁷ nos menciona que la utilización de animales como modelo de experimentación esta ampliamente difundida, debido a motivos económicos y también de infraestructuras necesarias y de manipulación, se sabe que la cicatrización en ratones es un proceso más rápido que en el hombre, las lesiones que puede sufrir nuestro cuerpo son muy diferentes de una simple rozadura cutánea a lesiones sumamente complicadas y graves.

El mercado farmacéutico viene desarrollando medicamentos, como los cicatrizantes, antiinflamatorios, entre otros; motivo por el cual se realiza el presente trabajo de investigación.

Así mismo se confirma la hipótesis de que el extracto hidroalcohólico de los tallos *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo" posee actividad cicatrizante.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” tiene actividad cicatrizante.
2. El extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”. Tiene los siguientes metabolitos secundarios: alcaloides, catequinas, cumarinas, saponinas, flavonoides, quinonas, esteroides y taninos.
3. La mayor actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” se presenta a una concentración de 200 mg/kg con 86,15 %.
4. El extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” no presenta irritabilidad dérmica.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar el estudio toxicológico del extracto hidroalcohólico de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo".
2. Realizar el estudio del extracto hidroalcohólico de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo" a un porcentaje mayor a 3 % para ver si aumenta el efecto cicatrizante.
3. Realizar estudios químicos de los metabolitos secundarios el extracto hidroalcohólico de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo".

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÀFICÀS

1. Arroyo J, Rojas J. Chenguayen J. Manual de Modelos Experimentales de Farmacología. 4ª ed. Editorial Tébar. Lima – Perú; 2004.
2. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de la Habana Cuba. Editorial Felix Varela; 2000.
3. Farmacopea de los Estados Unidos mexicanos. Dirección General de Control de Insumos para la Salud – Secretaria de Salud. 5ª ed. México; 1988.
4. Wanda A, Dorsette M. Modelo de herida en la piel de rata. 3ª ed. Editorial Elsevier; 2004.
5. Jurjus A. Farmacología modular de heridas en quemaduras. 7ª ed. Editorial Mundi_Prensa; 2007.
6. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. [revista en internet] 2007 octubre-diciembre. [acceso 15 de diciembre de 2012]; 5(2): Disponible en: <http://www.humboldt.org.co/chmcolombia/biodiversidad.htm>.
7. Genaro A. Farmacia Tomo 2. 20ª ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana S.A. ; 2003.
8. Otero R, Jiménez S, Nuñez V. Etnobotánica en el noroccidente de la región de Colombia. 3ª ed. Editorial Paidotribo; 2003.
9. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural 5ª ed. Editorial omega; 2003.
10. Osorio J. Aspectos básicos de farmacognosia. 5ª ed. Editorial Paidotribo, Barcelona España; 2009.
11. Quispe M. Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Jungia paniculata* (DC) A.Gray “matico de puna”. [Tesis de pregrado]. Ayacucho, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2010.
12. Font Quer P. Plantas medicinales. Dioscórides Renovado 7ª ed. Barcelona: Masson; 1981.
13. Ramírez A. Plantas medicinales alto Andinas de las zonas de Ayacucho-Huancavelica. Editorial panamericana; 2006.
14. Gaurdarden P. Composición química de plantas medicinales. 2ª ed. Editorial Panamericana; 1998.
15. Vanaclocha B, Cañigual S. Fitoterapia: Vademécum de prescripción. 4ª ed. Editorial Mason. Barcelona; 2003.
16. Vander A. Plantas medicinales, Las enfermedades y su tratamiento por las plantas. 4ª ed. Editorial Barcelona; 2005.
17. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica de plantas medicinales. 2ª ed. Editorial Acribia; 2001.
18. Winterstein R, Trier P. Resumen de farmacognosia, Nutrición para la Salud. Editorial Paidotribo, Barcelona España; 1989.
19. Riedel M. Proteínas. [Revista de internet] 2010 [acceso 10 de abril del 2013] disponible en: <http://www.pdfactory.com>.
20. Stadelmann W. Fisiopatología dynamics y curación de heridas cutáneas [revista en internet] 2008 enero – diciembre [acceso 11 de septiembre de 2013]; 5(3). Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/cicatrizaci%c3%B3n>.
21. Trott Derrickson A. Heridas y cortes. Tratamiento y suturas de urgencias. 3ª ed. España: Elseiver Mosby; 2007.
22. Litter M. Farmacología experimental. 5ª ed. Buenos Aires- Argentina: Ateneo; 2001.
23. Curtis M. Farmacología Integrada Fisiopatología y enfermedades de la Piel. 4ª ed. Harcourt.- España; 2008.

24. Geneser F. Histología. 5ªed. Médica Panamericana. Buenos Aires; 2006.
25. Duce A. Patología Quirúrgica. Editorial 2ª ed. Manuel Moderno El sevier-España; 2004.
26. Ramírez G. Fisiología de la cicatrización cutánea. Revista facultad de salud. [revista en internet] 2010 septiembre-diciembre. [acceso 5 de noviembre de 2012]; 2(2): Disponible en: <http://www.revistarfs.com/articulos/9---fisiologia-de-la-cica.pdf>.
27. Angulo P. La medicina tradicional en el desarrollo de fitomedicamentos, 1ª ed. Editorial del mar EIRL. 2004.
28. Villavicencio O. Fitoterapia a través del tiempo. [revista en internet] 2008 agosto- octubre. [acceso 10 de Febrero de 2013]. Disponible en: <http://www.revistadosis.com.ar/pdf/Afecciones de la piel 5 pdf>.
29. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales.2ª ed. Perú: Editorial Fondo; 1994.
30. Andrades M, Due R, Curación de heridas de tratamiento, hospitalario en Colombia. [revista en internet] 2007 octubre – noviembre. [acceso 01 de setiembre de 2013]; 3(1). Disponible en: http://www.medicosecuador.com/librosecng/articuloss/1/fisiologia _de _la _cicatricacion.htm.
31. Orozco G. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcoholico de los tallos *Equisetum arvense* L. "cola de caballo" [tesis de pregrado]. Colombia, Universidad Nacional De Colombia; 2010.
32. Nazate A. Fenoles naturales. Química orgánica II. [revista en internet] 2008 septiembre- diciembre. [acceso 20 de setiembre de 2013]. Disponible en: <http://q-nicauce.wikispaces.com/file/view/taninos+y+flavonoides+-+rabajo+1+organica+ii.pdf>.
33. Álvarez M. Fenoles naturales. [revista en internet] 2007 octubre -diciembre. [acceso 01 de setiembre de 2013]; 2(5). Disponible en: http://q-organicauce.wikispaces.com/file/view/trabajo+taninos+y+flavonoides_Michelle+Alvarez.pdf.
34. Brady R. Curso programado de anatomía y fisiología. 5ª ed. Editorial. Mexico: Limusa, 2002.
35. Rodríguez A, León M, Hernández A, Junio E. Prueba de Irritabilidad Dérmica primaria del *Plantago mayor* L. [revista en internet] 2003 enero – diciembre [acceso 11 de abril de 2013]; 1(3). Disponible en: <http://www.Revistaplatmed.net/tdx-1113107-discusi%d3n.pdf>
36. Laupa E. Actividad cicatrizante de la crema elaborada a base de la harina de *Eisenia foetida* "Lombriz Californiana" [Tesis de pregrado]. Ayacucho, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2011.
37. Agullo J. Estudio experimental de la cicatrización en artroplastia de resección de la cadera, [tesis de pregrado]. España, Universidad de Barcelona; 2007.

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 4. Certificado de la identificación taxonomica



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. **Jackeline, CASTRO GUTIERREZ**, 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 ENGLER Y PRANTL, modificado por MELCHIOR en 1904, y es como sigue:

DIVISIÓN	:	ARTROPHYTA
CLASE	:	EQUISETINEA
ORDEN	:	EQUISETALES
FAMILIA	:	EQUISETACEAE
GENERO	:	Equisetum
ESPECIE	:	<i>Equisetum bogotense Kunth.</i>
N.V.	:	"cola de caballo"

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

Ayacucho 09 de Octubre del 2012

Anexo 2

Tabla 5. Análisis de varianza del volumen de resistencia a la tensión.

grupos	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	6112,365	4	1528,91	122,224	0,000
Intra-grupos	250,048	20	12,502		
Total	6362,414	24			

Anexo 3

Tabla 6. Análisis de varianza del porcentaje de la actividad cicatrizante.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11084.429	3	3694,810	42,387	0,000
Intra-grupos	1394.710	16	87,169		
Total	12479.139	19			

Anexo 4

Tabla 7. Prueba de tukey del porcentaje de la actividad cicatrizante.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa= 0,05		
		2	3	1
100 mg/kg	5	23,0420		
Dermaclín plus	5	37,2920		
150 mg/kg	5		54,6620	
200 mg/kg	5			86,1560
Sig.		0,115	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
 a Usa el tamaño muestral de la media armónica= 5.000.

Anexo 5

Tabla 8. Características de los metabolitos secundarios

Metabolitos Secundarios	Ensayos	Observaciones
	Dragendorff	precipitado
Alcaloides	Mayer	Turbidez definida
	Wagner	Precipitado
Catequinas	Catequinas	Mancha verde carmelita a la luzUV
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	Precipitado rojo
Saponinas	Espuma	Formación de espuma
Flavonoides	Shinoda	Fase amílica de color rojo
Quinonas	Borntrager	Fase acuosa de color rojo
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann-burchard	Coloración verde oscura
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	Coloración verde intenso

Fuente: Miranda y Cuellar.²

Anexo 6

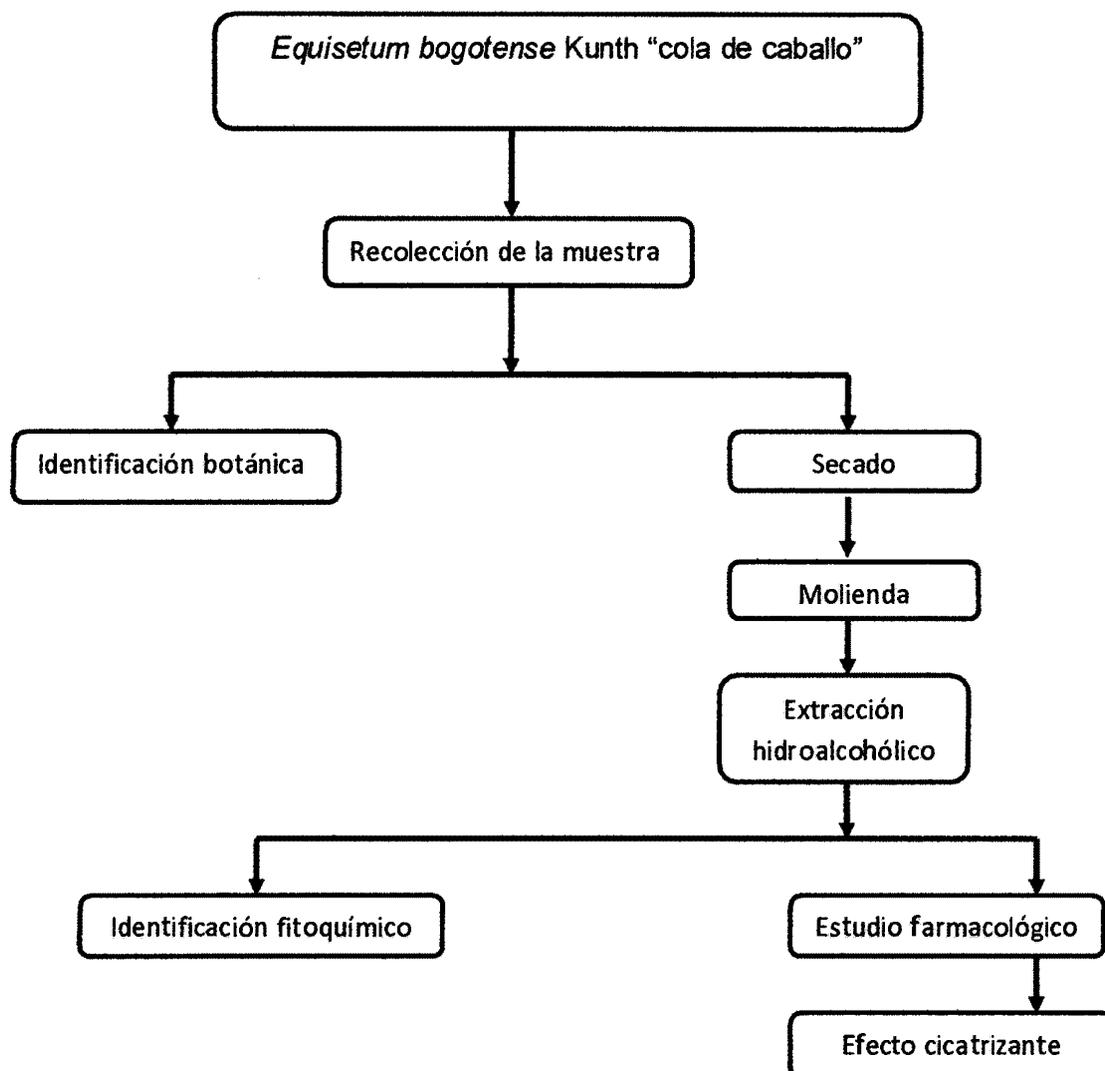


Figura 5. Protocolo del procedimiento metodológico

Anexo 7



Figura 6. *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo"

Anexo 8



Figura 7. Extracto hidroalcohólico seco

Anexo9

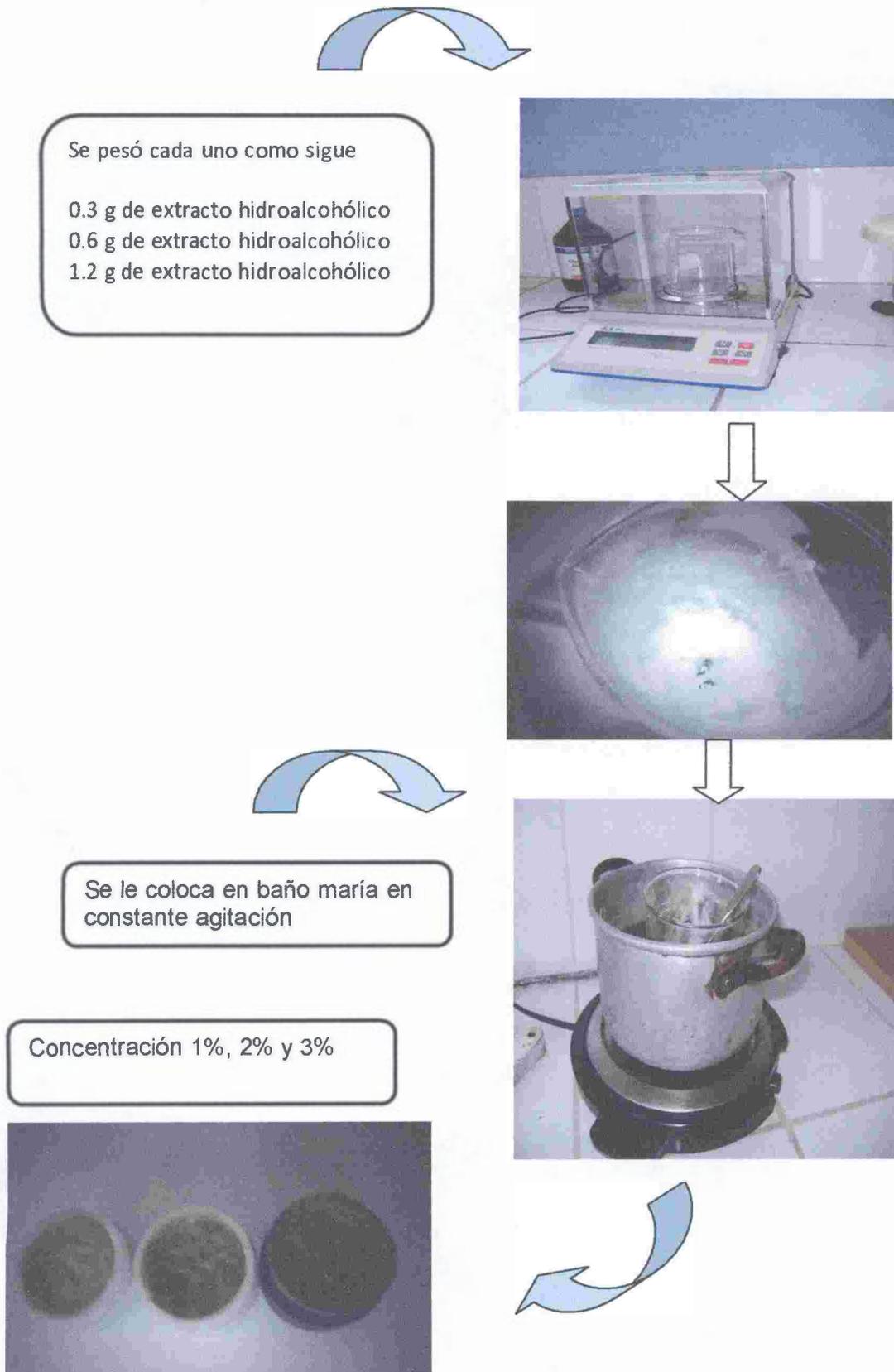


Figura 8. Flujograma de preparación del extracto hidroalcohólico

Anexo 10



Figura 9. Manipulación del extracto hidroalcohólico seco

Anexo 11



Figura 10. Tubos de ensayo del screening fitoquímico

Anexo 12



Figura 11. *Mus musculus* "ratones" albinos machos

Anexo 13



Figura 12. Depilación del lomo de *Mus musculus* "ratón"

Anexo 14

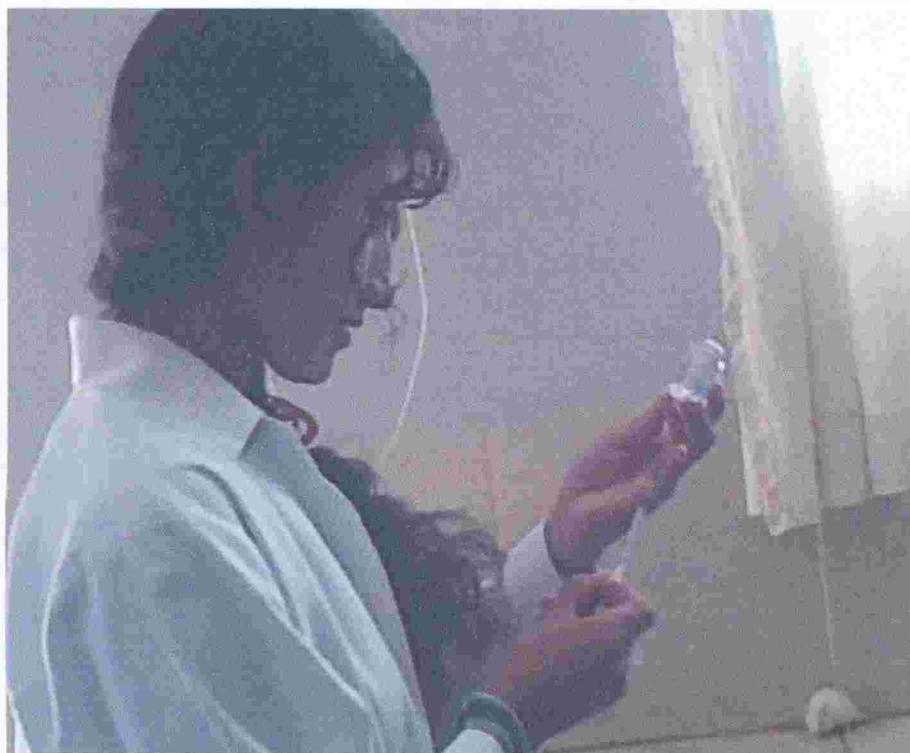


Figura 13. Preparación del pentobarbital sódico

Anexo 15

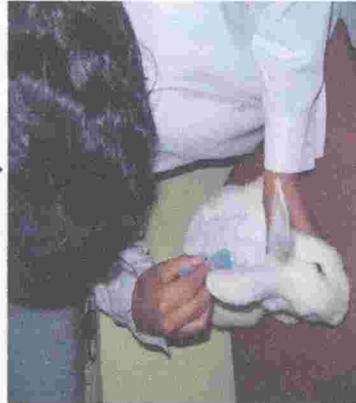
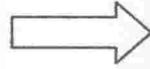


Figura 14. Equipo tensiómetro

Anexo 16



Cinco conejos albinos



No presentó irritabilidad

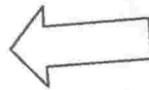


Figura 15. Determinación de la irritabilidad dérmica

Título	Problema	Objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables e Indicadores	Metodología
Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo" Ayacucho - 2012	¿Tendrá actividad cicatrizante el extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo"?	<p>Objetivo general Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo".</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Realizar el screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo". Realizar la irritabilidad dérmica del extracto hidroalcohólico <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo" en animales <i>Oryctolagus cuniculus</i> "conejos" albinos. 	<p>Marco teórico Planta vascular inferior, las hojas, pequeñas y escuamiformes, se agrupan en verticilos sobre los nudos, las bases de las hojas están soldadas formando un collar que rodea completamente el tallo, inmediatamente por encima del nudo. Cada hoja tiene un único nervio que forma una costilla central y presenta estomas en su epidermis inferior.</p> <p>Usos medicinales Desde tiempos remotos la cola de caballo ha sido considerada como uno de los más valiosos diuréticos conocidos en la naturaleza. Gracias a su aporte de minerales, es remineralizante, hemostática y antianémica. Muy útil en casos de desmineralización, raquitismo, osteoporosis, rupturas de huesos, hemorragias.</p> <p>cicatrización Cicatrización es el conjunto de procesos biológicos, fisico-químicos y celulares que se producen como respuesta de los tejidos a una lesión y tiene como finalidad, obtener la recuperación funcional de los mismos, mediante la formación de un tejido fibroso.</p>	El extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo" tiene actividad cicatrizante	<p>Variable independiente Extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo".</p> <p>Variable dependiente Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo".</p> <p>Indicador Nivel de resistencia a la tensión</p>	<p>Tipo de Investigación Población: Tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo" del distrito de San Miguel, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho, ubicado a 2550 m.s.n.m.</p> <p>Muestra: Constituido por 2 kg de los tallos secos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo".</p> <p>Diseño experimental Se preparó cinco grupos experimentales, cada uno con cinco ratones distribuidos al azar. El primer grupo fue el blanco, al cual se le administró agua destilada, el segundo grupo fue el control al cual se administró Dermaclin Plus, al tercer grupo se administró el extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo" de 100 mg/kg, al cuarto grupo se le administró el extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo" de 150 mg/kg y al quinto grupo se le administró el extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth "cola de caballo" de 200 mg/kg.</p> <p>Análisis estadístico Los resultados se expresan en tablas y figuras. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos son evaluados a través del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. Las comparaciones se hacen entre cada tratamiento a través de la Prueba de Tukey mediante el programa SPSS versión 17,0</p>



0 Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”.

Ayacucho - 2012

Jackeline, Castro Gutierrez, Johnny Aldo Tinco Jayo¹.

¹ Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga

RESUMEN

Las heridas crónicas son de difícil cicatrización, son un reto para los profesionales de la salud y un problema de salud pública dados los altos costos y la morbilidad que generan. El tipo de investigación fue básica experimental. El objetivo fue determinar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth, realizado durante los meses de octubre del 2012 a febrero del 2013. Las muestras de tallos de *Equisetum bogotense* Kunth fueron recolectados en el distrito de San Miguel, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho. Para la determinación del efecto cicatrizante se utilizó el test de cicatrización propuesta por Howes.¹ Para esta prueba se utilizaron 25 “ratones” *Mus musculus*, de 25 a 30 g de peso que fueron divididas en cinco grupos al azar, a los cuales se les administraron tópicamente cada 12 horas, el extracto hidroalcohólico de 100 mg/kg, 150 mg/kg, y 200 mg/kg se utilizó como blanco (agua destilada) y un estándar (Dermaclín Plus). En el screening fitoquímico propuesto por Miranda y Cuellar,² los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico fueron: alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos, catequinas, cumarinas, quinonas. Para la determinación de la irritabilidad dérmica se utilizó cinco conejos albinos a los cuales se le aplicó las cremas a base de extracto hidroalcohólico de 1,0 %; 2,0 % y 3,0 %, en periodo de 24 horas. Se obtuvieron los porcentajes de actividad cicatrizante que fueron a 100 mg/kg con 23,04 %, 150 mg/kg con 54,66 %, 200 mg/kg con 86,15 % y el Dermaclín Plus con 37,29 %. La mayor actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” se presentó a una concentración de 200 mg/kg con 86,15 %, al realizar la prueba de irritabilidad dérmica en la escala de Draize,³ no presentó irritabilidad dérmica. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth presenta actividad cicatrizante.

Palabras clave: *Equisetum bogotense* Kunth, actividad cicatrizante.

SUMMARY

Chronic wounds are difficult to heal, are a challenge for health professionals and public health problem given the high costs and morbidity they generate. The basic type of research was experimental. The objective was to determine the healing activity of the hydroalcoholic extract of stems from *Equisetum bogotense* Kunth, conducted during the months of October 2012 to February 2013. Samples Kunth bogotense *Equisetum* stems were collected in the district of San Miguel, province of La Mar, department of Ayacucho. To determine the healing effect test was used for healing proposal Howes.¹ For this test we used 25 mice "*Mus musculus*, 25 to 30 g in weight were divided randomly into five groups to which they topically administered every 12 hours, the hydroalcoholic extract of 100 mg / kg, 150 mg / kg, and 200 mg / kg was used as blank (distilled water) and a standard (Dermaclin Plus). In screening proposed phytochemical Cuellar Miranda, ² secondary metabolites present in the hydroalcoholic extract were: alkaloids, saponins, flavonoids, tannins, catechins, coumarins, quinones. Determining for skin irritability was used five albino rabbits to which was applied the creams based hydroalcoholic extract of 1.0%, 2.0% and 3.0%, in 24-hour period. Rates were obtained that were healing activity at 100 mg / kg to 23.04%, 150 mg / kg to 54.66%, 200 mg / kg to 86.15% and 37.29% Dermaclin Plus. The greatest healing activity of the hydroalcoholic extract of stems from *Equisetum bogotense* Kunth "ponytail" was presented at a concentration of 200 mg / kg with 86.15%, the testing of dermal irritability Draize scale,³ no presented skin irritability. We conclude that the hydroalcoholic extract of stems from *Equisetum bogotense* Kunth presents healing activity.

Key words: *Equisetum bogotense* Kunth healing activity.

INTRODUCCIÓN

Muchos investigadores y comunidades médicas buscan mejorar el cuidado de una herida con miras a promover la cicatrización pero el estudio de sustancias completamente efectivas es aún un misterio científico.⁴

Principalmente porque la cicatrización es un proceso complejo que incluye un sin número de eventos que resultan de la interrelación de diferentes estructuras celulares. Esta inicia con una respuesta inmunológica que se amplifica y tiende a evitar que las heridas tengan complicaciones posteriores, adicionalmente, a la cicatrización favorece otros mediadores como son la inflamación, la proliferación celular y la reepitelización, conducen al cierre de la herida.⁵

El mundo dispone de una variedad de productos naturales que se presentan como fuente de moléculas con un potencial en el tratamiento de múltiples patologías. El Perú es el primer país en diversidad de especies vegetales que además son utilizadas, en gran parte, en la medicina tradicional permitiendo que su uso sea fácilmente comercializado a bajos costos.⁶

El *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” tiene un alto contenido en silicio. Es reafirmante, estimulante por lo que es habitual utilizarla en la cicatrización porque ayuda en la vasoconstricción, deteniendo el sangrado ayudando que se regenere más rápido la piel.⁷

Rescatando la información tradicional de nuestros pueblos y haciendo posible su integración a la medicina científica, se busca que los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” sirva como una alternativa para el tratamiento de heridas como cicatrizante.

Por tal motivo, se plantea el presente trabajo de investigación teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”.

Objetivos específicos

- Realizar el screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”.
- Determinar la concentración de mayor actividad de cicatrización del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”.
- Realizar la irritabilidad dérmica del extracto hidroalcohólico *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” en animales *Oryctolagus cuniculus* “conejos” albinos.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de farmacología del área Académica de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de

la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de setiembre del 2012 a febrero del 2013.

Población y muestra

Población. Tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” del distrito del distrito de San Miguel, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho, ubicado a 2550 m.s.n.m.

Muestra. Constituido por 2 kg de los tallos secos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”.
Animales de experimentación. Estuvo conformada por 25 animales *Mus musculus* “ratones” con un peso de 25 a 30 g que fueron adquiridos con una semana de anticipación, provenientes del Instituto Nacional de Salud (Chorrillos- Lima).

Diseño metodológico para la recolección de datos Procedimiento para la recolección

Se tomó en cuenta el uso tradicional de los tallos aéreos de la especie vegetal en estudio, se recolectó en plena reproducción por la mañana, los tallos mas verdes y en buenas condiciones para su posterior traslado y preparación del herbario e identificación en el laboratorio de Botánica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Tamizaje fitoquímico

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuellar.²

Preparación de las concentraciones

Se utilizó crema como base cuyos componentes fueron: ácido esteárico, aceite de parafina, alcohol cetílico, trietanolamina y propilenglicol. Se preparó el extracto hidroalcohólico al 1 %, 2 %, y al 3 % con la finalidad de que exista una mejor adherencia, permanencia y absorción del extracto en la zona de sutura de los ratones.

Análisis experimental

Determinación del efecto cicatrizante, según el test de cicatrización

Método experimental: El método que usó fue el propuesto por Howes¹ que se basa en el fundamento del test de cicatrización.

Procedimiento:

1. Se depiló el lomo de los animales *Mus musculus* “ratones” en un área aproximada de 2 cm², 24 horas antes del test, con el fin de evitar alguna reacción alérgica a la crema depiladora.
2. Se pesó y distribuyó aleatoriamente en un lote dividido en cinco grupos cada grupo con cinco animales *Mus musculus* “ratones” y se les colocó en jaulas individuales.
3. Se anestesió al animal con pentobarbital sódico “halatal” (1ml/2,5 kg), por vía intraperitoneal.
4. Luego se desinfectó el área depilada para realizar la incisión de un centímetro de largo en el tercio del lomo y perpendicular al eje

longitudinal del animal *Mus musculus* "ratón".

5. Se afrontaron los bordes de la herida con un punto de sutura de nudo triple.
6. Se administró en forma tópica la primera dosis del tratamiento, esto se repitió cada 12 horas hasta el término del periodo de aplicación.
7. Pasadas las 72 horas se procedió a sacrificar al ratón con una sobre dosis de pentobarbital sódico.
8. Posteriormente al sacrificio, se quitó el punto de sutura y se colocó al animal en posición de cubito ventral sobre el aparato de tensión.
9. Se insertaron las agujas del aparato de tensión a 0,5 cm de los bordes de la herida, se empleó una bureta (enrasada con agua destilada) para dejar caer el agua al vaso hasta generar una tensión que abra la herida en toda su longitud.
10. Se anotó el volumen alcanzado.
11. Luego se determinó el porcentaje de la actividad cicatrizante.

El porcentaje de actividad cicatrizante se obtuvo por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Act.} = \frac{X_{\text{tto}} - X_c}{X_c} \times 100$$

Donde:

%A= Porcentaje de actividad cicatrizante.

X_{tto} = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado.

X_c = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado con crema base

Determinación de la irritabilidad dérmica primaria

La irritación producida por una sustancia se midió por una técnica de prueba de parche sobre la piel escoriada e intacta del conejo albino.

El dorso del conejo se rasuró adecuadamente 3,0 x 3,0 cm aproximadamente, se introdujo bajo un parche cuadrado de gasa quirúrgica que midió 2,5 x 2,5 cm y con un grosor de dos mono capas el extracto a ensayar. Los animales se inmovilizaron con los parches asegurados en su lugar con tela adhesiva. Todo el tronco del animal se envolverá con un material impermeable, por un periodo de 24 h. A las 24 h de exposición se quitaron los parches, se evaluó las reacciones resultantes mediante la escala de valores descrita por Draize³ para la evaluación de las lesiones de la piel.

X = 0 : No irritante.

0 < x < 2: Levemente irritante

2 < x < 6: Moderadamente irritante

6 < x < 8: Severamente irritante.

Análisis estadístico

Los resultados se expresan en tablas y figuras. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos son evaluados a través del Análisis de

Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. Las comparaciones se hacen entre cada tratamiento a través de la Prueba de Tukey mediante el programa SPSS versión 17,0

RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios.

Metabolitos secundarios	Resultados
Alcaloides	
Dragendorff	+++
Mayer	+++
Wagner	+++
Catequinas	+
Lactonas y/o cumarinas	+
Saponinas	+++
Flavonoides	+++
Quinonas	+
Triterpenos y/o esteroides	+
Fenoles y/o taninos	+++

Leyenda:

Mínimo : (+)

Moderado : (++)

Intenso : (+++)

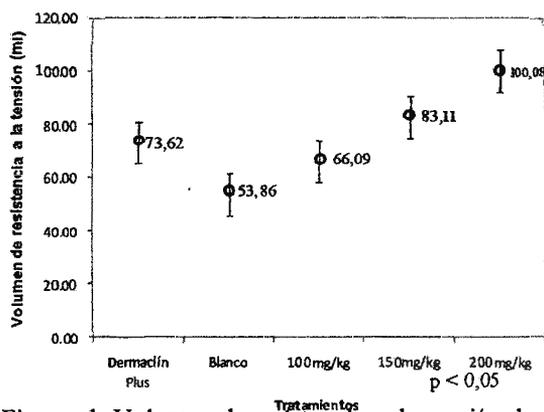


Figura 1. Volumen de resistencia a la tensión de los tratamientos

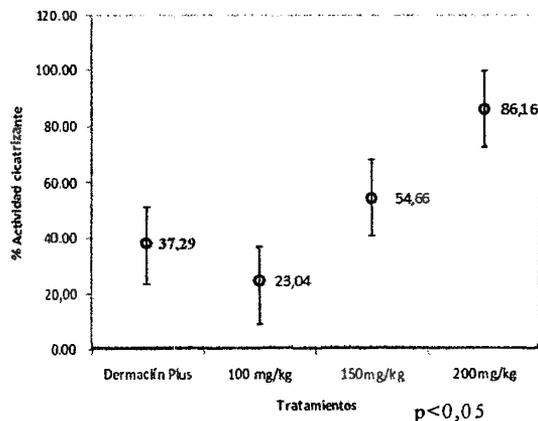


Figura 2. Porcentaje de actividad cicatrizante, según tratamientos

Tabla 2. Valores de irritabilidad según la escala de Draize.

Parámetro	Fórmula	Resultados	
		Eritema	Edema
Irritabilidad dérmica primaria	Extracto hidroalcohólico 1%	0	0
	Extracto hidroalcohólico 2%	0	0
	Extracto hidroalcohólico 3%	0	0
	Dermaclín plus	0	0

DISCUSIÓN

El aprovechamiento de las plantas medicinales data desde la antigüedad según consta en diversos testimonios históricos pertenecientes a distintas civilizaciones y culturas que han ido sucediéndose en nuestro planeta; pues ellos constituyen la medicina más antigua y la más natural que ha permanecido vivo a través del tiempo. Estos recursos curativos vegetales están agrupados por categorías terapéuticas, de acuerdo a sus efectos farmacológicos seleccionados en razón de su uso común.⁸

En el Perú la medicina tradicional es el resultado de lo que antiguamente los expertos dividían en medicina popular, medicina folklórica y medicina ancestral, donde se agrupa a todo un conjunto de conocimientos, para poder curar y prevenir las enfermedades físicas y del alma rescatándose a través de los tiempos y que cada pueblo o cultura ha sabido guardar o conservar.²⁸

Debemos tener en cuenta que para conocer nuestro presente es necesario apelar al estudio de nuestro pasado⁹. Por ende es necesario investigar y demostrar la efectividad terapéutica de la flora como consecuencia la validación de actividad cicatrizante de la especie en estudio de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo"

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 estructura relativamente compleja y de distribución más restringida y más característica de fuentes botánicas específica, 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; son considerados artículos de lujo en la planta¹⁰. Motivo por el cual el presente trabajo de investigación realiza la determinación de metabolitos secundarios mediante la marcha

fitoquímica, de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo".

La capacidad de curación de heridas es también un tema complicado. El metabolito secundario más relacionado con el efecto cicatrizante son los taninos, los cuales son solubles en agua y en disolventes orgánicos polares como el alcohol.¹¹

En la Tabla 1 muestra los siguientes metabolitos secundarios: compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos en abundante proporción y en menor proporción, quinonas, triterpenos. La elevada presencia de silicio orgánico actúa regenerando los tejidos ya que el silicio se encuentra en la piel (contribuye el mantenimiento del colágeno), las uñas, el esmalte dental, los ligamentos, los cartílagos y los huesos. Aumenta las defensas específicas del organismo. Es astringente, anti-diarréico y cicatrizante debido a los taninos que presenta.¹²

Lock,¹⁰ demostró y corroboró que los metabolitos secundarios responsables del efecto farmacológico, son específicamente los taninos condensados (colores verde intenso) y flavonoides, corroborando así el screening fitoquímico realizado por Orozco,³¹ donde reporta la presencia de flavonoides, taninos, antraquinonas, alcaloides, triterpenos y lactonas comparando con los resultados realizados en *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo" nos muestra casi los mismos metabolitos secundarios con la diferencia que en el extracto de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo" también se encontró presencia de saponinas.

Kuklinski,¹² nos menciona que algunos metabolitos secundarios coadyuvan a la acción de la luteolina y quercetina, los cuales participan en el proceso de cicatrización. La presencia de flavonoides, catequinas y taninos, confieren la propiedad cicatrizante, por tener capacidad de regenerar los tejidos.

En la Figura 1 se muestra el volumen de tensión por efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo", frente al Dermaclín Plus y el blanco mostrando que el extracto de concentración de 200 mg/ml presenta mayor volumen de tensión de 100,08 ml seguida de la concentración de 150 mg/ml con 83,11 ml, el Dermaclín Plus con 73,62 ml, el blanco con 53,86 ml por debajo del Dermaclín Plus. La concentración de 100 mg/ml con 66,09 ml, corroborando así con el estudio realizado sobre el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos *Equisetum arvense* L. "cola de caballo" de Orozco,¹³ que reportó a 50 mg/ml es de 40,10 ml, a 100 mg/ml es de 60,20 ml, a 150 mg/ml 75,12 ml, en comparación con el extracto hidroalcohólico de *Equisetum bogotense* Kunth "cola de caballo" de 200 mg/ml con un 86,16 lo cual se concluye que por ser de la misma especie tienen muy parecidos resultados en el porcentaje de actividad cicatrizante, este efecto se

debe a los metabolitos secundarios que se encuentran presentes en el extracto hidroalcohólico, podemos mencionar que los taninos cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y hemostática al detener el sangrado. La cicatrización se produce por la formación de las 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 ende a la curación de las heridas,¹⁴ los flavonoides son importantes para la salud de los vasos sanguíneos. Regulan la permeabilidad del capilar, por eso detienen el flujo de proteínas y células de sangre, pero permiten el flujo de oxígeno, dióxido de carbono y otros nutrientes. Muchos flavonoides incrementan la fortaleza de los vasos, capilares, previniéndolos de cerrarse fácilmente. Esto es en parte debido a que ciertos flavonoides tienen una acción similar a la de la vitamina C.¹⁵

En la Figura 2 muestra el porcentaje de actividad cicatrizante del extracto Hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” frente al Dermaclín Plus, obteniéndose un mayor porcentaje de actividad cicatrizante a concentración de 200 mg/ml con un 86,16 % seguido de la concentración de 150 mg/ml con 54,66 % y el patrón con 37,29 % mientras que, la concentración de 100 mg/ml presenta un porcentaje de 23,04 %, corroborando con el estudio realizado por Orozco³¹, sobre la Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos *Equisetum arvense* L. “cola de caballo” reportó que 50 mg/ml es de 15,80 % a 100 mg/ml es de 21,50 % a 150 mg/ml 50,24 %, es en comparación con el extracto hidroalcohólico de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” de 200 mg/ml con un 86,16 %, seguido de la concentración de 150 mg/ml con 54,66 % y la concentración de 100 mg/ml presenta un porcentaje de 23,04 % lo cual se concluye que por ser de la misma especie tienen muy parecidos resultados en el porcentaje de actividad cicatrizante.

Hay factores que pueden retardar el proceso de cicatrización como la presencia de bacterias en la herida, por nutrición inadecuada, por un estado patológico coexistente y por factores fisiológicos.¹⁶ En la Tabla 2, nos muestra que en los conejos albinos tratados no se encontraron signos de irritación cutánea por lo que el índice de irritación primaria es de 0-0, mostrándose que a las 24 horas no se observó ningún tipo de eritema ni edema para la forma farmacéutica en estudio, de igual manera a las 48 horas, por tanto, aplicando la escala de Draize se clasifican esta extracción hidroalcohólico como no irritantes.¹⁷

Rodríguez,¹⁷ menciona que dentro del campo de la toxicología se encuentra la toxicidad aguda que incluye el test de irritabilidad dérmica descrito por

Draize, esta prueba brinda información sobre los efectos adversos que puede observarse luego de la aplicación dérmica del producto ofrece datos de toxicidad inicial para fines de regulación calificación, clasificación, transportación y estudios posteriores de toxicidad crónica y subcrónica dérmica del producto.

Laupa,¹⁸ muestra que en el estudio realizado sobre la irritabilidad dérmica en conejos albinos utilizando para los tratamientos, de crema elaborada a base de harina de *Eisenia foetida* “lombriz californiana” en la cual muestra como no irritante, comparado con el estudio realizado con cola de caballo también se muestra como no irritante en la piel del conejo. Por tanto se puede decir que en ambos trabajos no presenta ningún tipo de irritación según la tabla de Draize.

Agullo,¹⁹ nos menciona que la utilización de animales como modelo de experimentación esta ampliamente difundida, debido a motivos económicos y también de infraestructuras necesarias y de manipulación, se sabe que la cicatrización en ratones es un proceso más rápido que en el hombre, las lesiones que puede sufrir nuestro cuerpo son muy diferentes de una simple rozadura cutánea a lesiones sumamente complicadas y graves.

El mercado farmacéutico viene desarrollando medicamentos, como los cicatrizantes, antiinflamatorios, entre otros; motivo por el cual se realiza el presente trabajo de investigación.

Así mismo se confirma la hipótesis de que el extracto hidroalcohólico de los tallos *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” posee actividad cicatrizante.

CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” tiene actividad cicatrizante.
2. El extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo”. Tiene los siguientes metabolitos secundarios: alcaloides, catequinas, cumarinas, saponinas, flavonoides, quinonas, esteroides y taninos.
3. La mayor actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” se presenta a una concentración de 200 mg/kg con 86,15 %.
4. El extracto hidroalcohólico de los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “cola de caballo” no presenta irritabilidad dérmica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arroyo J, Rojas J, Chenguayen J. Manual de Modelos Experimentales de Farmacología. 4ª ed. Editorial Tébar. Lima – Perú; 2004.
2. Chandrasoma C. Patología general. 3ª ed. México: El Manual Moderno; 1999.
3. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de la Habana Cuba. Editorial Felix Varela; 2000.
4. Farmacopea de los Estados Unidos mexicanos. Dirección General de Control de Insumos para la Salud – Secretaria de Salud. 5ª ed. México; 1988.
5. Wanda A, Dorsette M. Modelo de herida en la piel de rata. 3ª ed. Editorial Elsevier; 2004.
6. Jurjus A. Farmacología modular de heridas en quemaduras. 7ª ed. Editorial Mundi_Prensa; 2007.
7. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. [revista en internet] 2007 octubre-diciembre. [acceso 15 de diciembre de 2012]; 5(2): Disponible en: <http://www.humboldt.org.co/chmcolombia/biodiversidad.htm>.
8. Genaro A. Farmacia Tomo 2. 20ª ed. Buenos Aires. Editoria Médica Panamericana S.A. ; 2003.
9. Angulo P. La medicina tradicional en el desarrollo de fitomedicamentos, 1ª ed. Editorial del mar EIRL. 2004.
10. Villavicencio O. Fitoterapia a través del tiempo. [revista en internet] 2008 agosto-octubre. [acceso 10 de Febrero de 2013]. Disponible en: [http://www.revistadosis.com.ar/pdf/Afecciones de la piel 5 pdf](http://www.revistadosis.com.ar/pdf/Afecciones%20de%20la%20piel%205.pdf).
11. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Perú: Editorial Fondo; 1994.
12. Andrades M, Due R, Curación de heridas de tratamiento, hospitalario en Colombia. [revista en internet] 2007 octubre – noviembre. [acceso 01 de setiembre de 2013]; 3(1). Disponible en: http://www.medicosecuador.com/librosecng/articulos/1/fisiologia_de_la_cicatricacion.htm
13. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural 5ª ed. Editorial omega; 2003.
14. Orozco G. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcoholico de los tallos Equisetum arvense L. “cola de caballo” [tesis de pregrado]. Colombia, Universidad Nacional De Colombia; 2010.
15. Nazate A. Fenoles naturales. Química orgánica II. [revista en internet] 2008 septiembre-diciembre. [acceso 20 de setiembre de 2013]. Disponible en: <http://q-organica.wikispaces.com/file/view/taninos+y+flavonoides++trabajo+1+organica+ii.pdf>.
16. Álvarez M. Fenoles naturales. [revista en internet] 2007 octubre -diciembre. [acceso 01 de setiembre de 2013]; 2(5). Disponible en: http://q-organica.wikispaces.com/file/view/trabajo+taninos+y+flavonoides_Michelle+Alvarez.pdf.
17. Brady R. Curso programado de anatomía y fisiología. 5ª ed. Editorial. Mexico : Limusa, 2002.
18. Rodríguez A, León M, Hernández A, Junio E. Prueba de Irritabilidad Dérmica primaria del Plantago mayor L. [revista en internet] 2003 enero – diciembre [acceso 11 de abril de 2013]; 1(3). Disponible en: <http://www.Revistaplatmed.net/tdx-1113107-discusi%20d3n.pdf>
19. Laupa E. Actividad cicatrizante de la crema elaborada a base de la harina de Eisenia foetida “Lombriz Californiana“ [Tesis de pregrado]. Ayacucho, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2011.
20. Agullo J. Estudio experimental de la cicatrización en artroplastia de resección de la cadera, [tesis de pregrado]. España, Universidad de Barcelona; 2007.