

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE**  
**FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de  
las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".  
Ayacucho – 2012**

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

**PRESENTADO POR:  
Bach. AGUILAR GUILLÉN, Mítza.**

**AYACUCHO – PERÚ**

**2012**

DEDICATORIA

A mis padres: Miguel y Laura.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi alma mater la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por acogerme en sus claustros durante los años de formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, y a todos los docentes por sus enseñanzas e invaluable contribución y dedicación en mi formación académica.

Mi agradecimiento y respeto profundo a mis asesores Mg. Diez Macavilca José Manuel y Mg. Aguilar Felices, Enrique Javier.

## ÍNDICE

	Pág.
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Resumen	v
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	<b>3</b>
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Alnus acuminata</i> (kunth.) "aliso"	7
2.2.1. Clasificación sistemática	7
2.2.2. Descripción botánica	8
2.2.3. Distribución geográfica	9
2.2.4. Composición química	9
2.2.5. Propiedades y usos medicinales	9
2.3. Metabolitos secundarios con actividad cicatrizante	10
2.4. La piel	11
2.5. Cicatrización	13
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>16</b>
3.1. Ubicación	16
3.2. Materiales	16
3.3. Diseño Metodológico	17
3.3.1. Procedimiento para la recolección de muestra	17
3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico	17
3.3.3. Tamizaje fitoquímico	18
3.3.4. Preparación de las concentraciones	18
3.3.5. Determinación del efecto cicatrizante	19
3.4. Diseño experimental	20
3.5. Análisis estadístico	21
<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>22</b>
<b>V. DISCUSIÓN</b>	<b>26</b>
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>35</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	<b>36</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>37</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>41</b>

**Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) “aliso”. Ayacucho – 2012.**

**Autor** : Bach. Mitzá, AGUILAR GUILLEN.  
**Asesores** : Mg. José Manuel, DIEZ MACAVILCA.  
Mg. Enrique Javier, AGUILAR FELICES.

**RESUMEN**

El presente trabajo de investigación se desarrolló con la finalidad de evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) “aliso”, realizado en los Laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Las hojas fueron recolectadas en el distrito de Quinua, provincia de Huamanga, región de Ayacucho. Se obtuvo el extracto con etanol al 80%, los metabolitos secundarios fueron evidenciados mediante el procedimiento de Miranda y Cuellar (2000), y la actividad cicatrizante por el test de Howes (1929), en 30 ratones albinos distribuidos en cinco grupos, el primer grupo fue el blanco, el segundo el estándar y el tercer, cuarto y quinto grupo recibieron 0,5%, 1% y 2% respectivamente del extracto. Los metabolitos secundarios determinados fueron: taninos y fenoles, flavonoides, catequinas, terpenos y esteroides. Los volúmenes promedio de cicatrización fueron: 34,17 mL, 41,40 mL y 46,62 mL a las dosis ensayadas de los extractos respectivamente, mientras que el blanco fue de 26,23 mL y el estándar (Dermaclín Plus®) 32,40 mL. El ANOVA de los tratamientos demostró que existe diferencia significativa entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ).

Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) “aliso” presentó efecto cicatrizante.

**Palabras clave:** Efecto cicatrizante, *Alnus acuminata* (Kunth.).

## I. INTRODUCCIÓN

La curación de heridas es un tema muy antiguo como la historia del hombre, el hombre de Neanderthal en Irak 60 000 años A.C. uso hierbas contra quemaduras y según el papiro de Smith los apósitos datan desde 5 000 años A.C. en el antiguo Egipto ya se usaban como apósito el barro, goma, resinas, miel, mirra y sustancias oleosas. Por otro lado Hipócrates trataba a las heridas con vino, cera de abeja, roble sagrado, aceite y azúcar, escuela que incluso se mantiene en nuestros días (Andrades y Col., 2004).

Cuando el organismo sufre una lesión, se inicia una reacción compleja de todo el cuerpo y casi de inmediato se inician los esfuerzos para reparar los tejidos dañados (Brady, 1992). La cicatrización es la unión de los bordes de una herida cualquiera, con el restablecimiento de la continuidad dermo - epidérmica (Martini, 2005). Muchos tipos de células están involucradas en dicho proceso tales como: plaquetas, macrófagos y fibroblastos (Morales, 2007). La infección de la herida es una de las complicaciones quirúrgicas más frecuentes y una causa importante de morbilidad (Vermeulen y Col., 2007).

Sea cual fuere su origen, el tratamiento de las heridas en gran medida se ha venido desarrollando en base a una terapéutica natural exclusiva, principalmente con el uso de plantas medicinales administradas de varias formas como la vía tópica, ya que la terapia antibiótica sólo constituye un recurso preventivo ante

probables infecciones y no garantiza una buena y rápida cicatrización propiamente dicha (Quick, 2002).

*Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", es una planta originaria nativa de México, América central y América del sur, utilizada en el tratamiento de múltiples padecimientos, entre ellos utilizado por su efecto cicatrizante, el cual ha creado especial interés en su investigación. Lo que se busca es que el *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", sirva como una alternativa medicamentosa para el tratamiento de heridas ya que las lesiones epiteliales generan la necesidad de una cicatrización, por lo tanto debemos apresurar dicho proceso de regeneración. Teniendo en cuenta que no hay estudios sobre la propiedad cicatrizante de esta planta, se realizó el estudio sobre el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".

Por tal motivo, en el presente trabajo de investigación se plantean los siguientes objetivos:

#### **Objetivo General**

- Evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".

#### **Objetivos Específicos**

- Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".
- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" con mayor efecto cicatrizante.
- Comparar el porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" con un estándar (Dermaclín Plus®).

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 ANTECEDENTES

La medicina natural ha sido utilizada en todas las culturas y civilizaciones contra las enfermedades y contra la muerte utilizando las plantas medicinales, donde se les transforman para aislar los principios activos (Magallanes y Col., 1995).

Aún en la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina, pero la ciencia moderna analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, no con el fin de disminuir esta confianza en la naturaleza sino para agrupar las plantas de efectos similares. Un análisis de ésta naturaleza debe ser realizada como una acción multidisciplinaria con la intervención de botánicos, químicos, farmacólogos, farmacognostas, entre otros (Lock, 1994).

La familia Betulaceae pertenece al sistema de clasificación de plantas con flor llamadas angiospermas, esta familia está conformada por árboles, arbustos dicotiledóneos, caducifolios y monoicos, que se encuentran en regiones templadas y zonas de montaña a ella pertenecen los alisos y abedules.

El género *Alnus* (Betulaceae) está representado por aproximadamente 30 especies de árboles y arbustos monoicos denominados alisos distribuidos principalmente en América del sur en países como: Bolivia, Argentina, Colombia,

Chile, Perú. Y en América central en países como: Panamá, Costa Rica, Guatemala. Encontrándose a lo largo de ríos y pendientes húmedas, pudiendo soportar temperaturas que bajan temporalmente a 0°C (Reynel y Marcelo, 2009). Kim y Col. (2004), estudiaron los efectos hepatoprotectores y antioxidantes de los extractos de *Alnus japonica* utilizando para ello la corteza del tallo de la planta Betulácea. En este estudio fueron evaluadas las actividades antioxidante y la actividad hepatoprotectora sobre toxicidad inducida por acetaminofeno. Llegando a la conclusión de que dicha planta puede potencialmente ser utilizado para mitigar la hepatotoxicidad.

Kuroyanagi y Col. (2005), llevaron a cabo el trabajo de investigación "Nuevos diarilheptanoides de *Alnus japonica* y su actividad antioxidante". En el curso de la investigación sobre los componentes bioactivos de plantas leñosas en el área Cyugoku de Japón, en el extracto metanólico de las hojas de *Alnus japonica* se encontró que tenían una fuerte actividad antioxidante. Fracciones solubles del extracto de metanol tuvo un efecto antioxidante potente. Así, la estructura catecol de las diarilheptanoides resultó indispensable para la actividad antioxidante.

Yu y Col. (2007), realizaron un trabajo de investigación en donde aislaron triterpenoides y flavonoides de *Alnus firma* encontrándose que inhibían la replicación del virus VIH-1 y controlaban sus enzimas esenciales como la transcriptasa inversa, proteasa y alfa - glucosidasa. Entre los extractos en que se trabajaron, el extracto de metanol de las hojas de esta planta mostró una potente inhibición contra el efecto citopático del VIH-1 (la concentración mínima de inhibición completa del VIH-1 inducida, IC fue igual a 50 µg/ml). Basándose en estos resultados, las hojas de *Alnus firma* se han relacionado con la inhibición de

la proteasa por el éster metílico, así como la inhibición de la transcriptasa inversa por activación de flavonoides.

Stevic y Col. (2010), estudiaron la actividad antioxidante, citotóxica y antimicrobiana de los extractos de *Alnus incana* (L.) ssp. *incana* Moench y *A. viridis* (Chaix) ssp. *viridis*. Se encontró que todos los extractos de la corteza, son fuertes eliminadores de radicales libres 1,1-difenil-2-picrilhidrazil, exhibiendo 50% de concentración inhibidora ( $IC_{(50)}$ ) con valores de 3,3 – 18,9  $\mu\text{g/ml}$ , los extractos de *Alnus incana* y *Alnus viridis* mostraron importantes efectos citotóxicos con valores de  $IC_{(50)}$  que van desde 26,02 hasta 68,5  $\mu\text{g/ml}$ .

Lee y Col. (2011), estudiaron los efectos de los componentes antifibróticos de *Alnus firma* sobre células estrelladas hepáticas. En este exponen que la supresión del crecimiento y la activación de células hepáticas estrelladas (HSC) se han propuesto como estrategias terapéuticas para el tratamiento y prevención de la fibrosis hepática. En el curso del tamizaje de la actividad antifibrótica de productos naturales, el extracto metanólico de cortezas de *Alnus firma* mostró actividad inhibidora de la proliferación celular. Un nuevo triterpenoide caracterizado como 2,28-diol -3-il cafeato (13), se aisló con 12 diarilheptanoides conocidos (1-12) de las cortezas de *Alnus firma*. Utilizando bioactividad guiada por fraccionamiento. Entre estos compuestos dos y trece, inhibieron la proliferación de las CEH en forma dosis y tiempo dependiente en las concentraciones de 10 a 100  $\mu\text{g/ml}$ . En conjunto, las actividades antifibróticas de *Alnus firma* y sus componentes activos pueden sugerir las posibilidades terapéuticas contra la fibrosis hepática.

*Alnus acuminata* es una de las primeras especies en haber sido utilizadas en sistemas agroforestales tradicionales indígenas, debido al sistema radicular amplio que le permite crecer en suelos poco profundos.

Los estudios químicos demuestran la presencia de triterpenos, taninos, flavonoides y compuestos fenólicos, mostrando actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, anties-pasmolítica, antiulcerosa.

Salama y Col. (1996), estudiaron el efecto abortivo, aislamiento e identificación de principios activos de *Alnus acuminata*. El estudio farmacológico mostró un efecto abortivo alto (80-100 por ciento) en ratones hembras preñadas. El estudio histopatológico mostró cambios significativos en las células del útero.

Salama y Avendaño (2005), en su trabajo Actividad antiinflamatoria de  $\delta$ -amirona y 4', 7-dimetoxiapigenina aislados de *Alnus acuminata*, por el método del edema plantar en ratas hembras, en dosis de 30, 60 y 100 mg/Kg y de 30, 60 y 80 mg/Kg respectivamente. El efecto más alto se presentó a la primera hora en las tres dosis ensayadas, siendo de un nivel comparable en las dosis de 60 y 80 mg/Kg al presentado por el patrón indometacina en la dosis de 5 mg/Kg.

Aguilar y Col. (2011), estudiaron las actividades antiinflamatorias de los triterpenoides y diarilheptanoides de *Alnus acuminata* ssp. En este exponen y afirman que el principal uso de las infusiones de la corteza del tallo de esta planta, incluye tratamientos para la inflamación aguda en la medicina tradicional mexicana. Se usaron los extractos de la corteza del tallo con n-hexano, cloroformo y metanol, utilizando el modelo de edema de la pata trasera en rata inducido por carragenina, y la toxicidad aguda por vía oral en ratones. En dicha investigación concluyeron que los resultados confirman los usos tradicionales de *Alnus acuminata* en condiciones inflamatorias agudas y su inocuidad para el consumo.

## 2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA PLANTA

### 2.2.1. Clasificación sistemática.

- DIVISION: MAGNOLIOPHYTA
  - CLASE: MAGNOLIOPSIDA
  - SUBCLASE: HAMAMELIDAE
  - ORDEN: FAGALES
  - FAMILIA: BETULACEAE
  - GENERO: *Alnus*
  - ESPECIE: *Alnus acuminata Kunth.*
- N.V.: "aliso"

**Fuente:** Certificado emitido por la Blga. Laura Aucasime Medina Jefe del *Herbarium Huamangensis* - 2012 de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. (Anexo N° 01).

### **Sinonimia y nombres populares**

*Alnus acuminata* se le conoce por los siguientes nombres: *Alnus arguta*, *Alnus ferruginea* Humboldt, *Alnus jorullensis* Humboldt, *Alnus mirbelii* Spach, *Alnus spachii* Callier.

Y algunos nombres populares con que es llamado son: aliso, ilamo, palo de lama (Guatemala); jaúl, lambrán, ramrám (Costa Rica); Aile, Lite, Aliso (Rep. Mex.) (Reynel y Marcelo, 2009).

### 2.2.2 Descripción botánica de *Alnus acuminata* (Kunth) “aliso“

De acuerdo a Reynel y Marcelo (2009).

- **Aspecto general.** Es un árbol de porte mediano, de hasta 20 m de altura y de 20 cm a 70 cm de diámetro. Tiene el fuste recto y la copa desde el segundo tercio.
- **Corteza.** La corteza externa es escamosa y de color cenizo, con lenticelas protuberantes y alargadas, de 1 cm de longitud. La corteza interna es de color rosado o crema.
- **Hojas.** Las hojas son simples y alternas. Tienen forma oblonga u ovada, de 7 cm a 9 cm de longitud y de 5 cm a 7 cm de ancho. Se caracterizan por tener el borde aserrado y los nervios muy rectos e impresos en la cara superior de la hoja. Usualmente carecen de pelos, aunque en algunos casos se observa algo de pilosidad.
- **Flores.** Las flores se agrupan por separado según el sexo (especie monoica) en un mismo árbol. Las flores masculinas son muy pequeñas y numerosas, de unos pocos milímetros de longitud, agrupadas en amentos pendulares o espigas colgantes de unos 10 cm de longitud. Las flores femeninas son igualmente pequeñas y se agrupan conformando conos o estróbilos, de 1 cm a 2,5 cm longitud.
- **Frutos.** Los frutos se agrupan en infrutescencias oblongas, con aspecto de conos. Son aplanados, alados y muy pequeños, de 2 mm a 4 mm de longitud.
- **Fenología.** La floración se da mayormente entre abril y agosto. Tiene frutos todo el año, pero en especial entre enero y julio.

### **2.2.3 Distribución geográfica**

Su rango de distribución es amplio: Argentina, Bolivia, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guatemala, México, Panamá, Perú y Venezuela. En el Perú se encuentra en los departamentos de Amazonas, Ayacucho, Ancash, Apurímac, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, La Libertad, Lambayeque, Lima, Pasco y Piura. El rango de distribución altitudinal oscila entre los 400 y los 3 800 m.s.n.m, en ceja de selva, bosques montanos nublados y regiones altoandinas. En el departamento de Ayacucho, se encuentran en diferentes localidades como Apacheta, Chiara, Alpachaca, Quinoa, entre otros (Reynel y Marcelo, 2009).

### **2.2.4 Composición química**

Se han reportado metabolitos secundarios de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", entre ellos flavonoides, taninos, otros como saponinas, resinas, aceites esenciales (Aguilar y Col., 2011).

### **2.2.5 Propiedades y usos medicinales**

La corteza contiene taninos que se extraen por hervido simple y se emplean para la curtiembre de cueros. De la corteza y hojas se extrae un tinte de color amarillo a verde, empleado para el teñido de algodón y lana. Es una planta medicinal. El follaje, en infusión se emplea como diurético y para curar el reumatismo, la artritis y los resfríos. Molido y formando una pasta, se aplica sobre la piel para cicatrizar heridas (Reynel y Marcelo, 2009).

En la sierra central se usa para curar el reumatismo (Torres, 1985).

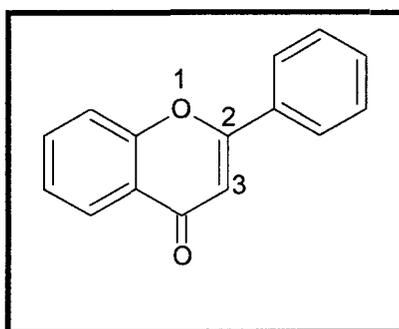
Su corteza es usada para curar el "paludismo" (Mostacero y Mejía, 1993).

### 2.3. METABOLITOS SECUNDARIOS CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE

a. **Flavonoides.** Son compuestos fenólicos, casi siempre hidrosolubles responsables de la coloración de numerosas flores, algunos frutos, semillas, raíces, que se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Limaylla, 1984).

Este grupo es conocido por sus efectos antiinflamatorios y antialérgicos, por sus propiedades antitrombóticas y vasoprotectoras, por la inhibición de la promoción de tumores y como protectores de la mucosa gástrica. Estos efectos se han atribuido a la influencia de los flavonoides sobre el metabolismo del ácido araquidónico (Evans, 1991).

Farmacológicamente son antioxidantes (por quelación de metales), acción antiespasmódica, antiinflamatoria, anticoagulante indirecto de la sangre, acción diurética, antiedematoso, hipocolesterolemia. Para su reconocimiento en una solución hidroalcohólica, producen una coloración amarilla, naranja, carmelita o rojo al añadir ácido clorhídrico concentrado y magnesio metálico (Bruneton, 1991).



**Figura N° 1.** 2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides (Villar del Fresno, 1999).

**b. Taninos.** El término "tanino" fue introducido por Seguin en 1796 para designar a ciertas sustancias presentes en extractos vegetales capaces de combinarse con las proteínas de la piel, evitando su putrefacción y convirtiéndola en cuero. Se distinguen en los vegetales superiores, dos grupos de taninos diferentes por su origen biosintético: taninos hidrolizables y taninos condensados.

Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles, su importancia está ligada a sus propiedades curtientes, es decir a la propiedad que tienen de transformar la piel fresca en material imputrescible (Lock, 1994).

Los taninos son conocidos desde la antigüedad por sus propiedades curtientes, astringentes y antiinflamatorias. Por vía externa impermeabilizan las capas más externas de la piel y mucosas, protegiendo así las capas subyacentes, de ahí su empleo como cicatrizante y en el tratamiento de quemaduras y por vía interna ejercen un efecto antidiarreico, antiséptico entre otros (Brunetón, 1991).

La acción protectora e inhibitoria de las secreciones y exudaciones hace útiles a los taninos en la curación de heridas, se absorbe fácilmente por la piel, se aprovecha en lesiones de procesos cutáneos, tales como ulceraciones, escaras, grietas cutáneas y por la acción astringente la piel lesionada queda retraída (Litter, 1988).

#### **2.4. LA PIEL**

La piel es el órgano más grande del cuerpo, entre sus funciones tenemos el de mantener el equilibrio, regular la temperatura corporal y la protección física contra patógenos (Aguirre y De la Garza, 2003).

Tiene como función principal proteger al organismo contra los factores nocivos del medio externo: químicos, mecánicos, físicos o infecciosos. Mientras que la

piel sana constituye un tejido resistente a toda clase de sustancias, la piel inflamada es muy sensible y fácilmente irritada por cualquier agente. Por esta razón es primordial en esos casos, la medicación tópica o local que facilita la curación de los procesos inflamatorios (Litter, 2001).

## **Estructura de la Piel**

### **a.- Epidermis**

La epidermis o capa externa de la piel está compuesta de células epiteliales escamosas estratificadas dispuestas en cinco estratos. A medida que se forman células nuevas en el estrato epidérmico más profundo, hay un empuje continuo de células hacia arriba, que al comprimirse progresivamente, se deshidratan y se hacen escamosas cuando llegan a la superficie del cuerpo. Este estrato de células más externo, está muerto y se descama continuamente, siendo sustituido por nuevas células que se están formando debajo. De los cinco estratos que conforman la epidermis, solo el estrato de Malpighi o estrato espinoso es susceptible de división celular mitótica. Debido a que la epidermis no está vascularizada, tiene que depender de la difusión de nutrientes y líquidos provenientes de los tejidos subyacentes para mantener su actividad metabólica esencial (Brady, 1992).

El estrato corneo es la capa más superficial de la epidermis, está constituido de células que se descaman continuamente; el estrato lúcido está compuesto de células transparentes aplanadas; el estrato granuloso del que se cree tiene una participación activa en la queratinización, proceso por el cual las células se hacen más compactas. El estrato espinoso se halla dispuesto en varias capas y son las que están limitando con las células del estrato basal de la epidermis, quién descansa sobre un tejido membranoso al que generalmente se denomina estrato basal. La melanina, el pigmento que le da el color a la piel se encuentra en la epidermis.

### **b.- Dermis**

La segunda capa de la piel denominada dermis o corión, está compuesta de tejido conectivo muy bien dotado de vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios, fibras elásticas, entre otros. La dermis consta de dos estratos: el estrato papilar, adyacente a la epidermis y el estrato reticular que se encuentra entre el estrato papilar y tejido subcutáneo. El estrato papilar está formado de salientes y depresiones alternadas que aparecen como tenues surcos en la superficie exterior de la piel. Exactamente debajo del estrato papilar de la dermis se encuentra una red de capilares venosos denominada plexo venoso subpapilar (Tortora y Rey, 2002).

### **c.- Tejido subcutáneo**

Inmediatamente debajo de la dermis hay una lámina de tejido areolar comúnmente conocida como tejido subcutáneo o fascia superficial.

Este tejido, que por lo general contiene grandes cantidades de células grasas (adiposas), fija la dermis a estructuras subyacentes como la fascia profunda y el tejido muscular (Brady, 1992).

## **2.5. CICATRIZACIÓN**

Toda ruptura de integridad de la piel o de las mucosas corresponde a una herida (Martini, 2005).

La cicatrización es un proceso complejo, muchos tipos de células están involucradas en el proceso de cicatrización tales como: plaquetas, macrófagos y fibroblastos (Morales, 2007).

La cicatrización desde el punto de vista quirúrgico, es la unión de los bordes de una herida cualquiera con el restablecimiento de la continuidad dermo-epidérmica (Martini, 2005).

### 2.5.1. Fases de la cicatrización

La cicatrización se divide en cuatro etapas o fases: hemostasia, inflamación, granulación y epitelización, y remodelación (Berengust, 2008).

**a) Hemostasia.** Con la hemorragia se activan las plaquetas por la trombina y fibrillas de colágeno expuestas por la injuria. Éstas liberan mediadores para la formación del coágulo y factores de crecimiento (Fc) llamados Pdgf (factor de crecimiento derivado de las plaquetas), que atraen fibroblastos. Se forman una matriz provisoria de fibrina y fibronectina para deslizamiento de fibroblastos, monocitos y vasos.

**b) Inflamación.** En heridas suturadas duran de cuatro a cinco días y en abiertas de siete a diez días o más si hay infección. Aparece edema, eritema y dolor, por la llegada de células inflamatorias. Primero se fomenta la migración de leucocitos a la zona, siendo los neutrófilos y mastocitos la primera defensa contra la infección. La segunda línea corresponde a monocitos, que al pasar a los tejidos se llaman macrófagos. Los neutrófilos y macrófagos fagocitan y eliminan sustancias extrañas, bacterias y tejidos necróticos. Los macrófagos fabrican también Fc (Pdgf, fibroblástico) y citoquinas que regulan la síntesis de colágeno e inician la angiogénesis y granulación.

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

La epitelización es la restauración de la epidermis, es quien cierra el proceso de curación de la herida.

**d) Remodelación.** Consiste en el depósito y degradación de matriz extracelular, para aumentar la fuerza tensil de la cicatriz. Se degrada el colágeno de tipo III, que era el que prevalecía y en su lugar se deposita el colágeno de tipo I que es más resistente, el que da fuerza y que otorga elasticidad. Las fibras de colágeno que inicialmente se encuentran desorganizadas son interconectadas, ordenadas y alineadas a lo largo de las líneas de tensión. Una vez epitelizada la herida, la cantidad de colágeno se completa en dos o tres semanas, pero su resistencia y funcionalidad aumenta hasta un año después de la injuria.

### **FACTORES QUE MODIFICAN LA CICATRIZACIÓN**

Según Morales (2007), se plantean los siguientes factores:

**Locales.** Oxígeno, irrigación, daño celular, bacterias (tipo, cantidad), técnica quirúrgica, sutura (materiales, técnica).

**Sistémicos.** Hipoxia, hipovolemia, manipulación, diabetes, uremia, deficiencia vitamínica, deficiencia de zinc.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. UBICACIÓN**

El presente trabajo de Investigación se realizó en los Laboratorios del Área Académica de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de Julio a Diciembre 2012.

#### **3.2. MATERIALES**

##### **3.2.1. Población**

Plantas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" (Anexo Nº 04), que crecen en el distrito de Quinoa, provincia de Huamanga, región de Ayacucho.

##### **3.2.2. Muestra**

Se utilizó una muestra de un kilogramo de hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" (Anexo Nº 05) recolectadas al azar, durante el mes de abril en el distrito de Quinoa, provincia de Huamanga, región de Ayacucho, ubicado a 3 396 m.s.n.m. Una parte de la muestra se llevó al Herbarium Huamangensis para su identificación y clasificación botánica.

### **3.2.3. Animales de experimentación**

Se trabajó con 30 ratones albinos, *Mus musculus*, machos, de 22 – 24 g de peso y de 25 a 32 días de edad, en buen estado de salud con buena alimentación y agua. Los ratones fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos - Chorrillos - Lima (Anexo Nº 02) y se mantuvieron con alimento balanceado y agua por unas semanas en el bioterio de Farmacología.

## **3.3. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **3.3.1. Procedimiento para la recolección de muestra**

Para la recolección, selección y secado de la muestra, se realizó siguiendo los procedimientos establecidos por Villar del Fresno (1999). Se seleccionó las hojas intactas, se lavaron con abundante agua y se secaron a la sombra, en una habitación ventilada, sobre papel periódico, aproximadamente por una semana, para su posterior reducción de tamaño a partículas, haciendo uso de un mortero de porcelana hasta obtener un polvo fino.

### **3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico de *Alnus acuminata* (Kunth) “aliso”**

La muestra seca y molida se maceró en un frasco de color ámbar por una semana aproximadamente, en alcohol de 80º; éste cubrirá la muestra por un centímetro de diferencia. Durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se procedió a filtrar al vacío. Se evaporó el extracto a presión reducida en el rotavapor a una temperatura menor o igual a 50°C, hasta lograr un extracto de consistencia blanda, conservando refrigerado (Anexo Nº 06).

### **3.3.3. Tamizaje fitoquímico del *Alnus acuminata* (Kunth) “aliso”**

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuellar (2000).

### **3.3.4. Preparación de las concentraciones del extracto de *Alnus acuminata* (Kunth) “aliso”**

Se gelificó el extracto hidroalcohólico al 0,5%, 1%, 2% con la finalidad de que exista una mejor adherencia, permanencia y absorción del extracto en la zona de sutura en los ratones, en el test de cicatrización (Anexo N° 10).

La gelificación se realizó disolviendo 0,5; 1; 2 g de la muestra (extracto hidroalcohólico seco) en 20 mL de agua destilada; luego se añadió agua destilada c.s.p 100 mL y se procedió a calentar, para luego añadir un gramo de carboximetilcelulosa (Anexo N° 09).

### **3.3.5. Determinación del efecto cicatrizante**

**Método experimental:** Se usó el Método de Howes, que se basa en el fundamento de test de cicatrización “medición de la resistencia de la herida a la tensión” (Arroyo y Col., 2004).

**Test de cicatrización:** Es la medida de la fuerza de tensión ejercida y necesaria para abrir una herida de un centímetro de largo en toda su longitud, realizada en el tercio superior del lomo del ratón (Anexo N° 14).

#### **Procedimiento:**

- Se depiló el lomo del ratón en un área aproximada de dos centímetros cuadrados, esto se realizó veinticuatro horas antes, con el fin de descartar una reacción alérgica a la crema depiladora marca Veet®.

- Se pesó a los ratones y luego se les agrupó aleatoriamente dividiéndolos en cinco grupos (Anexo N° 11).
- Se anestesió con pentobarbital sódico 1 mL / 2,5 kg; para una buena manipulación.
- Luego se realizó la incisión de un centímetro de largo en el lomo del ratón, previamente se desinfectó la zona (Anexo N° 12).
- Se unió los bordes de la herida y se suturó con un punto triple utilizando seda negra 6/0 (Anexo N° 12).
- Se inició inmediatamente con la administración de la primeras dosis de los diferentes tratamientos a cada grupo: extractos hidroalcohólico al 0,5%; 1% y 2%; blanco (gel); polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos 1% (Dermaclín Plus®) cantidad necesaria hasta recubrir la herida cada doce horas, por un período de tres días.
- Pasadas las 72 horas se procedió a sacrificar al ratón con una sobredosis de pentobarbital sódico 1%.
- Al momento de quitar el punto de sutura se colocó al animal en posición de cúbito ventral sobre el aparato de tensión (Anexo N° 13).
- Se insertaron las agujas del aparato de tensión a 0,5 cm de los bordes de la herida y se dejó caer el líquido contenido en la bureta al vaso hasta que generará la tensión que abrió la herida en toda su longitud (Arroyo y Col., 2004) (Anexo N° 14).

El porcentaje de actividad cicatrizante, se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% Act = \frac{X_{to} - X_b}{X_b} \times 100$$

Dónde:

% Act = Porcentaje de actividad cicatrizante

X<sub>to</sub> = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado con los extractos.

X<sub>b</sub> = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo sin tratamiento (blanco) (Arroyo y Col., 2004).

### 3.3.6. Diseño experimental

El diseño empleado es el diseño completamente randomizado. Las concentraciones elaboradas serán sometidas a la actividad cicatrizante, los animales de experimentación serán divididos de manera aleatoria en cinco grupos, con seis repeticiones para cada grupo:

- Grupo I: Blanco (gel).
- Grupo II: Estándar: Polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos 1% (Dermaclín Plus®).
- Grupo III, IV y V: Extracto hidroalcohólico al 0,5%; 1% y 2 % de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", respectivamente.

### **3.4 ANÁLISIS DE DATOS**

Los resultados a obtenerse se representarán mediante cuadros y gráficos. La diferencia significativa existente entre los tratamientos será evaluada a través del análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. Las comparaciones entre cada tratamiento se harán con la Prueba HSD de Tukey, para cuyo efecto se recurrirá al uso del programa SPSS versión 16,0.

#### **IV. RESULTADOS**

**Cuadro N° 01.** Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho – 2012.

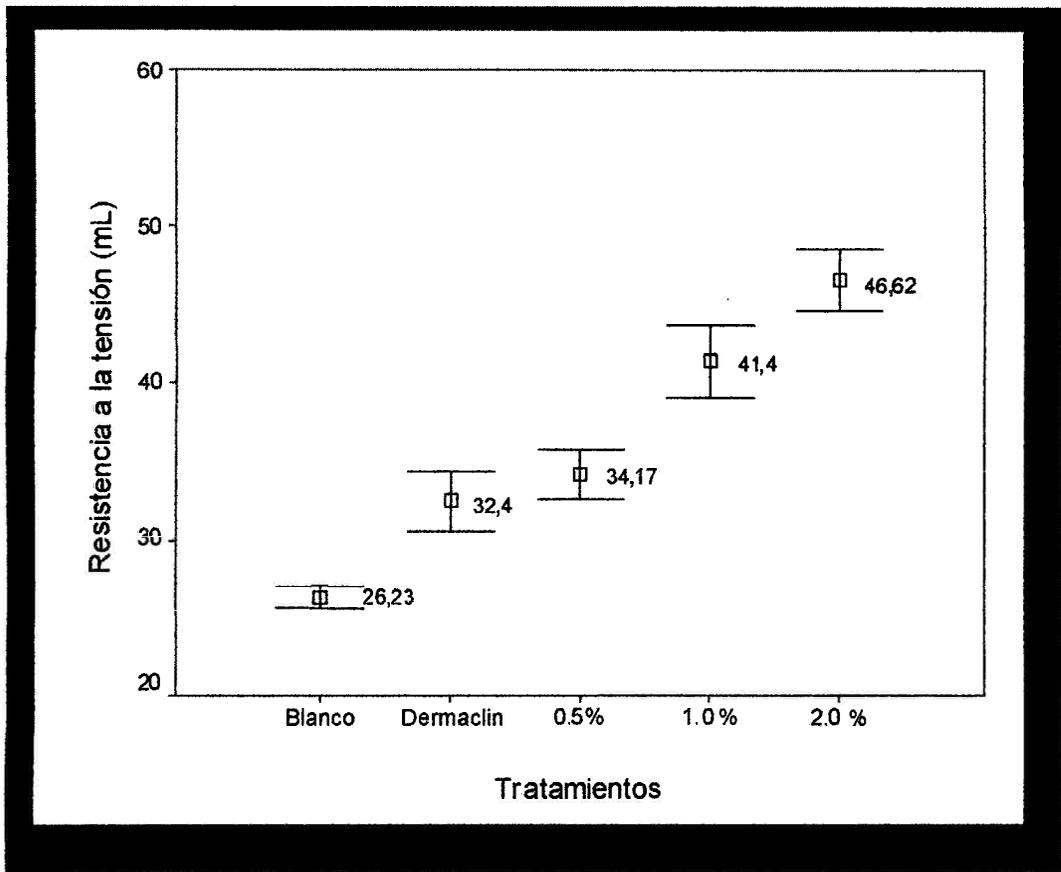
Metabolitos Secundario	Reactivos y/o Reacciones	Resultados	Observaciones
Fenoles y/o taninos	Tricloruro férrico	+++	Coloración verde intenso
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración rojo intenso
Saponinas	Espuma	+	Formación de espuma
Azúcares reductores	Benedict	++	Precipitado rojo ladrillo
Catequinas	Catequinas	+++	Halo fosforescente
Terpenos y/o esteroides	Lieberman y Burchard	+++	Coloración azul verdoso.
Lactonas y cumarinas	Baljet	++	Rojo oscuro
Alcaloides	Dragendorff	+	Ligero precipitado naranja oscuro
	Mayer	+	

**LEYENDA:**

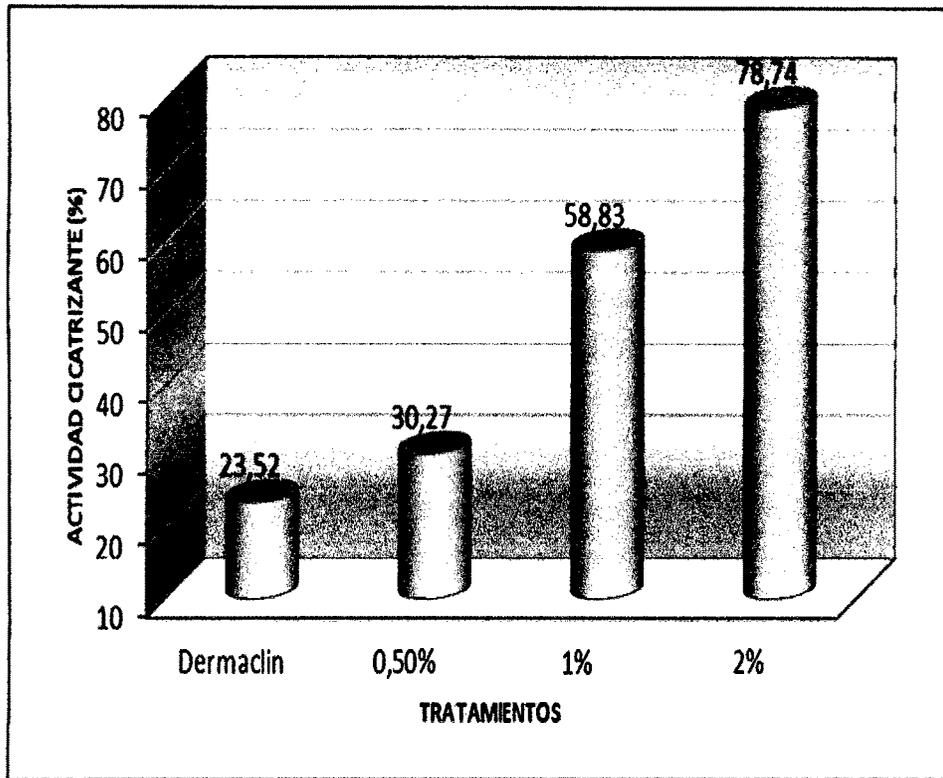
ESCASA :(+)

REGULAR :(++)

ABUNDANTE :(+++)



**Gráfico N° 01.** Promedio de resistencia a la tensión en mililitros por efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho – 2012.



**Gráfico N° 02.** Porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho – 2012.

## V. DISCUSIÓN

Las plantas medicinales juegan un papel muy importante en el mantenimiento de la salud, siendo así que se estima, se utilizan unas 10 000 especies vegetales, con este propósito. Pero más importante que la gran variedad de flora que existe a nivel mundial es el estudio de cada especie. Investigar y estudiar las propiedades que tienen dichas plantas para poder explotarlas en su totalidad (Salazar, 2009).

El uso de la medicina tradicional sigue estando muy extendido en los países en vías de desarrollo. En muchos países del mundo, los responsables de las políticas, los profesionales sanitarios y el público debaten con preguntas sobre la seguridad, la eficacia, la calidad, la disponibilidad, la preservación y con el desarrollo, de éste tipo de atención sanitaria (Quick, 2002).

Teniendo en cuenta que para conocer nuestro presente es necesario apelar al estudio de nuestro pasado, se debe incentivar y difundir la farmacología tradicional. Es así como se hace necesario investigar y demostrar la efectividad terapéutica de nuestra flora y como consecuencia la validación del efecto cicatrizante de la especie en estudio *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".

Diversos artículos publicados sobre temas botánicos, tales como "Caldasia" de Colombia, "Ticalia" de Guatemala, "Lankesteriana" de Costa Rica, entre otros, dan a conocer las diferentes contribuciones, especialmente investigaciones

sobre la presencia de diferentes metabolitos en plantas superiores la mayoría de ellos con resultados prometedores. Dichas investigaciones incluyen al género *Alnus*, en donde se le otorga propiedades antiinflamatorias, cicatrizantes y por actuar como contenedor de hemorragias, entre otros (Rojas y Col., 2006).

Para detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos de compuestos, se realizan las técnicas de "screening", que nos ayudan a evidenciar estos grupos de constituyentes mediante la formación de precipitados, coloraciones, etc. Estas reacciones se caracterizan porque son selectivas para las clases o grupos de compuestos que se investigan, son simples y rápidas, detectan la mínima cantidad posible y utilizan un mínimo de equipo de laboratorio (Miranda y Cuellar, 2000). Debido a esto, es que en el presente trabajo de investigación se realizó la determinación cualitativa de metabolitos secundarios, para lo cual se realizó una extracción con un disolvente hidroalcohólico en las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Se emplearon extractos hidroalcohólicos porque son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en la droga (Miranda y Cuellar, 2000).

En el Cuadro N° 01 se presenta a los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" (Anexo N° 08), donde se observa la presencia de flavonoides, fenoles y taninos, catequinas, terpenos y esteroides. Demostrándose que los metabolitos secundarios responsables del efecto farmacológico son principalmente los flavonoides (coloración rojo intenso), catequinas (halo fosforescente) y la presencia de taninos (coloración verde intensa). Quienes posiblemente le confieren el efecto cicatrizante a esta especie por tener la capacidad de regenerar los tejidos que favorecen la cicatrización de heridas.

Hinostroza (2009), en un estudio realizado sobre el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni

“estevia”. Reporta la presencia de compuestos fenólicos (flavonoides y taninos), esteroides y cumarinas entre otros, demostrando que los metabolitos secundarios responsables del efecto farmacológico, son específicamente los taninos y flavonoides.

Flores (2010), en un trabajo de investigación realizado sobre el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. “quimsauchu”. En el tamizaje fitoquímico destaca la presencia de flavonoides, taninos y catequinas, característica marcada en esta especie, quienes van a ser los responsables de la reparación tisular como cicatrizante externo por su gran contenido de dichos metabolitos secundarios.

Las aplicaciones de las drogas con taninos derivan de sus propiedades astringentes, antisépticas, protectores, antioxidantes. Mientras los flavonoides tienen la acción vitamínica P, son antihemorrágicos, antiinflamatorios, antibacterianos, antifúngicos (Kuklinski, 2003).

La farmacología es una ciencia que utiliza principalmente la observación y la experimentación con el fin de analizar la acción de los principios activos provenientes de productos vegetales o sintéticos sobre los organismos vivos, recurriendo a las técnicas habituales de la física, química, fisiología y clínica. El método experimental empleado en farmacología es un método hipotético deductivo cuyas etapas son la contrastación de un hecho, el surgimiento de una idea a partir de este hecho, a la vista de esta idea se razona, se imagina y se inicia una experiencia, de esta experiencia surgen nuevos fenómenos que es necesario observar e interpretar, y así sucesivamente. La mente del investigador se encuentra siempre entre dos observaciones (Villar y Mendocilla, 2009).

En el presente trabajo de investigación se busca evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) “aliso”, el cual

se administró por vía tópica sobre el lomo de los ratones. Se utilizó el modelo experimental propuesto por Howes, que se basa en el fundamento del test de cicatrización. Todos los experimentos en cicatrización buscan agentes que aceleren el proceso de cicatrización de heridas, la mayoría de las heridas son reparadas espontáneamente.

La evaluación de la resistencia de las heridas en el proceso de cicatrización, fue reportada por primera vez en 1929 por Howes y Col. En el Perú y a nivel mundial se evalúa el éxito de la cicatrización experimental de las plantas medicinales, utilizándose el método tensiométrico propuesto por Howes (Guillermo y Col., 2005).

Las heridas son lesiones físicas que dan como resultado una apertura o ruptura de la piel. La curación adecuada de la herida es esencial para la restauración de la continuidad interrumpida. El objetivo de tratar una herida es principalmente para acortar el tiempo requerido para la curación o para reducir al mismo las consecuencias no deseadas (Raina y Prawez, 2008).

Cuando un organismo sufre una lesión, la herida sangra y forma un coágulo que ayuda a detener la pérdida de sangre. Los vasos sanguíneos que rodean el sitio de la herida se dilatan, permitiendo que las células circulantes, oxígeno y materia nutritiva lleguen al área lesionada. Los fagocitos retiran los desechos. Los fibroblastos se multiplican en la herida y se combinan con los vasos sanguíneos en desarrollo para formar el tejido de granulación. Debido a la rápida capacidad regenerativa de la epidermis, en unos cuantos días quedara completamente cubierta la pequeña lesión (Brady, 1992).

El papel principal del excipiente es servir de soporte al principio activo que se desea aplicar sobre la piel, se sabe que el excipiente podrá influir en la penetración del principio activo hacia lugares más o menos profundos, situados

por debajo de la zona de aplicación y contribuir de este modo a la eficacia del preparado (Vila, 1997). Es por éste motivo que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" fueron gelificados.

Los geles se forman por agregación de partículas coloidales; los sistemas sólidos o semisólidos así formados están interpenetrados por un líquido. Dichas partículas se unen formando una malla entrelazada que confiere rigidez a la estructura, las mallas mantienen en su interior la fase continua. A menudo se requiere sólo un pequeño porcentaje de fase dispersa para conferir la rigidez (Aulton, 2004).

Las concentraciones con las cuales se trabajó fueron al 0,5%,1% y 2% de extracto hidroalcohólico en forma de gel, vehículo apropiado en preparaciones que se administra por vía tópica, utilizada para conferir la forma y el volumen necesario a una preparación líquida o semisólida (Flores, 2010). Usando la carboximetilcelulosa como vehículo adherente y prolongar así el contacto de los principios sobre la piel, en la preparación de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".

Se usó como control carboximetilcelulosa, para descartar la posibilidad de un efecto cicatrizante de los componentes del gel. Y así hallar el porcentaje del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".

Se utilizó como referencia el Dermaclín Plus®, estándar de la presente investigación. El cuál es un producto con un principio activo natural que permite aplicaciones para desinfección de heridas, cortes, quemaduras y otras afecciones de la piel. El Dermaclín Plus® contiene polifenoles cuaternarios derivados de los bioflavonoides cítricos, que le dan dicho efecto (Flores, 2010).

En el Anexo N° 15 se presenta las medidas de resistencia a la tensión en mililitros necesario para abrir la herida cicatrizada en los ratones por efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Cuando se ha producido una lesión, cualquiera que sea el mecanismo comienza la cicatrización normal de la herida a menos que haya interferencias o circunstancias que motiven a una reparación inadecuada de la herida (Trott, 2007).

Para dicha evaluación se realizaron seis repeticiones por cada grupo, en donde el preparado del extracto hidroalcohólico al 2% presenta mayores volúmenes de tensión comparado a las demás concentraciones del extracto hidroalcohólico. Así mismo se pueden apreciar los volúmenes de tensión del Dermaclín Plus®, en donde observamos que presenta volúmenes similares al 0,5% del extracto hidroalcohólico, tomando como referencia al blanco (sin tratamiento). Concluyendo que a mayor tensión nos indicara una mayor cicatrización.

El análisis de varianza, es una prueba estadística el cual sirve para analizar si más de dos grupos difieren entre sí de manera significativa en sus medias y varianzas (Hernández y Col., 2006). En base a lo anterior se determina que existe la diferencia entre los grupos de tratamiento, diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) a un nivel de confianza del 95% (Anexo N° 16), lo que conduce a un rechazo de la hipótesis nula aceptando la hipótesis alterna, confirmando que los datos obtenidos son significativos con una desviación estándar aceptable.

Sabemos que la probabilidad de que un evento ocurra oscila entre cero (0) y uno (1), donde cero significa la imposibilidad de ocurrencia y uno la certeza de que el fenómeno ocurra. El nivel de significancia de 0,05 implica que el investigador tiene el 95% de seguridad para garantizar sin equivocarse y sólo el 5% en contra. En términos de probabilidad 0,95 y 0,05 respectivamente, ambos suman la unidad (Hernández y Col., 2006).

La presente investigación muestra que los resultados fueron significativos a nivel de 0,05 ( $p < 0,05$ ), indica lo que anteriormente se comentó; que existe 5% de posibilidad de error al aceptar la hipótesis, correlación o valor obtenido al aplicar una prueba estadística ó 5% de que se rechace una hipótesis nula cuando esta es verdadera (Hernández y Col., 2006).

En el Gráfico N° 01, se observa los valores promedios de resistencia a la tensión en mililitros por efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", representando las comparaciones múltiples de los tratamientos con la Prueba de Tukey para evaluar dicho efecto, los cuales presentan diferencia de volumen promedio de tensión: blanco con 26,23 mL, dermaclín plus con 32,40 mL y los extractos al 0,5%, 1%, 2% con 34,17 mL, 41,40 mL y 46,62 mL respectivamente, demostrando que dichos extractos presentan efecto directamente proporcional a la dosis-respuesta, lo que significa diferencia de tratamiento al 0,5%, 1% y 2% de extracto hidroalcohólico en comparación al blanco y al estándar. Ciertas concentraciones son más efectivas que el patrón y demuestra además que las heridas tratadas con bajas concentraciones muestran resultados muy inferiores en el efecto cicatrizante.

La prueba de Tukey muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado parecido existente entre sus medias (Anexo N° 17), determinando así que el blanco (gel) difiere significativamente con el estándar y los extractos hidroalcohólicos al 0,5%, 1%, 2%. El extracto hidroalcohólico al 0,5% no difiere significativamente, es decir posee similar comportamiento con el estándar (Dermaclín plus®), pero difiere con los demás tratamientos; el extracto hidroalcohólico de 1% y al 2% difiere con los demás tratamientos.

En el Gráfico N° 02 se presenta el porcentaje de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", donde los resultados fueron: al 0,5% con 30,27%, al 1% con 57,83%, al 2% con 77,74%

respectivamente, observando claramente que el mayor porcentaje de cicatrización se da al 2% en comparación al 0,5%, 1% de extracto hidroalcohólico.

Mendoza (2010), en un estudio realizado sobre el efecto cicatrizante del extracto alcohólico del fruto de *Sambucus peruviana* "sauco", a concentraciones de 100 mg/kg, 500 mg/kg y 1000mg/kg de peso, demostró que la mejor eficacia resultó a 1000 mg/kg, obteniéndose un porcentaje de actividad cicatrizante de 313,48%. Siendo estadísticamente superior al resto de concentraciones y al blanco.

Flores (2010), en un trabajo de investigación sobre el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsauchu", demostró que el extracto con mayor actividad cicatrizante entre las concentraciones de 0,5%, 1% y 2%, fue este último, ya que presentó el mayor porcentaje de efecto cicatrizante, con 85,12%, quien fue estadísticamente superior al estándar (Dermaclín Plus®), presentando un porcentaje de 20,19. El cual también se utilizó en el presente trabajo obteniéndose un resultado similar.

Las lesiones que puede sufrir nuestro cuerpo son muy diferentes, desde una simple rozadura cutánea, a lesiones sumamente complicadas y graves (Díaz, 1998).

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 (Brady, 1992).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo contribuyen al conocimiento terapéutico y será una fuente de consulta para muchos investigadores. Como se sabe, el mercado farmacéutico viene desarrollando medicamentos como los cicatrizantes, antiinflamatorios, entre otros; motivo por el cual se realizó el presente trabajo de investigación. En donde afirmamos que se encontró

experimentalmente diferencias del efecto cicatrizante entre las concentraciones del extracto.

Así mismo se confirma la hipótesis de que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" posee actividad cicatrizante.

## VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" presenta efecto cicatrizante.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", presenta los siguientes metabolitos secundarios: taninos y fenoles, flavonoides, catequinas, terpenoides, y en menor proporción: azúcares reductores y lactonas.
3. El mayor efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" presenta al 2%, con un volumen de resistencia a la tensión necesaria para abrir la herida de 46,6 mL.
4. Se comparó los porcentajes de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", encontrando que los extractos al 1% y 2% presentan mayor porcentaje de actividad cicatrizante respecto al estándar representado por el Dermaclín Plus®.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Proseguir con el estudio del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" determinando y cuantificando específicamente cuál de los principios activos presentes en la planta es la responsable de este efecto.
2. Realizar la formulación de una forma farmacéutica semisólida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" para su aprovechamiento como cicatrizante.
3. Realizar estudios comparativos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" con dos o más estándares..

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aguilar, M.; Rovelo, R.; Verjan, G.; Ilescas, O.; Baeza, A.; De La Fuente, M.; Navarrete, A.** 2011. Anti-inflammatory activities, triterpenoids, and diarylheptanoids of *Alnus acuminata* ssp. *Arguta*. *Pharm Biol*; 49(10): 1052-1057.
2. **Aguirre, R.; De La Garza, L.** 2003. Tratado de cirugía general. Asociación y Consejo Mexicano de Cirugía General. Editorial Manual Moderno S.A. México.
3. **Andrades, P.; Sepúlveda, S. y González, J.** 2004. Curación avanzada de heridas". *Revista Chilena de Cirugía*; 56(4): 396 - 473.
4. **Arroyo, J.; Rojas, J. y Chenguayen, J.** 2004. Manual de modelos experimentales de farmacología, Primera edición. Perú.
5. **Aulton, M.** 2004. Farmacia la Ciencia del Diseño de las Formas Farmacéuticas. Segunda Edición. Editorial Elsevier. España.
6. **Brady, R.** 1992. Curso programado de anatomía y fisiología LA PIEL. Editorial Limusa. México.
7. **Bruneton, J.** 1991. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España.
8. **Berengust, G.** 2008. Heridas y Cicatrización. Primera Parte. Argentina; **18(4)**: 27-31.
9. **Díaz, J.** 1998. Manual básico de enfermería técnica y quirúrgica. Editorial Díaz de Santos S.A. Madrid. España.
10. **Evans, W.** 1991. Farmacognosia. 13 Edición. Editorial Interamericana Mc GRAW– HILL. México.
11. **Flores, E.** 2010. Estudio del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cuchu". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
12. **Guillermo, F.; Bonilla, P. y Arroyo, J.** 2005. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperonia scutellaefolia* R. et P en geles aplicados a *Ratus norvergicus*. *Folia Dermatológica Peruana*, (Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales) Lima; 16(1): 15-22.
13. **Hernández, R.; Fernández, C.; Baptista, P.** 2006. Metodología de la Investigación. Cuarta Edición. Editorial Mc Graw Hill. México.

14. **Hinostraza, M.** 2009. Estudio del efecto cicatrizante del extracto alcohólico del fruto de *Sambucus peruviana* "sauco". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
15. **Kim, S.; Kim, J.; Ahn, S.; Ahn, S.; Lee, Y.; Jeong, Y.** 2004. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Alnus japonica* extracts on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Res. Phytother*; 18(24): 16-27.
16. **Kuklinski, C.** 2003. Farmacognosia; estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Primera Edición. Editorial Omega S.A. España.
17. **Kuroyanagi, M.; Shimomae, M.; Nagashima, Y.; Muto, N.; Okuda, T.; Kawahara, N.; Nakane, T.; Sano, T.** 2005. New diarylheptanoids from *Alnus japonica* and their antioxidative activity. *Chem. Pharm Bull. Tokyo*; 53(12): 23-112.
18. **Lee, M.; Kim, Y.; Sung, S.** 2011. Antifibrotic constituents of *Alnus firma* on hepatic stellate cells. : *Med. Chem. Lett Bioorg*; 21(10): 2-906.
19. **Limaylla, C.** 1984. Química de los Productos Naturales – Guía para los Métodos de Análisis Fotoquímicos. Impresiones Vicente. Tomo I. Ayacucho – Perú.
20. **Litter, M.** 1988. Compendio de farmacología. Cuarta edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires – Argentina.
21. **Litter, M.** 2001. Compendio de Farmacología. Cuarta edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires –Argentina.
22. **Lock, O.** 1994. Investigación fitoquímica. Editorial Fondo P.U.C.P. Segunda Edición. Lima-Perú.
23. **Magallanes, C.; Aucasime, I.; Magallanes, M.** 1995. Conservación de plantas Alimenticias y Medicinales Nativas de la Provincia de Huamanga. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Instituto Superior Mons. Víctor Álvarez Huapaya. Ayacucho-Perú.
24. **Martini, M.** 2005. Introducción a la Dermofarmacia y a la Cosmetología. Edición Acribia S.A. Zaragoza – España.
25. **Mendoza, F.** 2010. Estudio del efecto cicatrizante del extracto alcohólico del fruto de *Sambucus peruviana* "sauco". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.

- 26. Miranda, M.; Cuéllar, A. 2000.** Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Habana (Cuba). Editorial Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.
- 27. Morales, F. 2007.** Temas Prácticos en Geriatría y Gerontología. Primera edición. Editorial Universal Estatal a distancia. Costa Rica.
- 28. Mostacero J, Mejía F. 1993.** Taxonomía de fanerógamas peruanas. Editorial Libertad EIRL. Trujillo – Perú.
- 29. Quick, J. 2002.** Estrategia de la OMS sobre la medicina tradicional 2002 – 2005, Organización mundial de la Salud Ginebra Suiza.
- 30. Raina, R.; Prawes, S. 2008.** Medicinal Plants and their Role in Wound Healing. Artículo 21. Vet San.
- 31. Reynel, C.; Marcelo, J. 2009.** Árboles de los ecosistemas forestales andinos. Manual de identificación de especies. Serie investigación y Sistematización N°9. Programa Regional ecobona – intercooperation. Lima.
- 32. Rojas, F.; Torres, G.; Arnáez, E.; Moreira, I. 2006.** Serie de Cuadernos Científicos y Tecnológicos. Subserie Especies Forestales Tropicales N°1. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Departamento de Ingeniería Forestal.
- 33. Salama, A. y Avendaño, I. 2005.** Actividad antiinflamatoria de  $\delta$ -amirona y 4', 7-dimetoxiapigenina aislados de *Alnus acuminata*. Rev. Col. Cienc. Quím. Farm; 34(2): 117-121.
- 34. Salama, A.; Rincón, J.; Torres, M.; Iregui, C. 1996.** Abortive effect, isolation and identification of actives principes of *Alnus acuminata*. Rev. colomb. ciencias quim. Farm; 21(10): 26-35.
- 35. Salazar, R. 2009.** Evaluación de la actividad biológica de productos herbolarios comerciales. Departamento de Química Analítica Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio Gonzales de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Medicina Universitaria – Elsevier. México.
- 36. Stevic, T.; Savikin, K.; Zdunic, G.; Stanojkovic, T.; Juranic, Z.; Jankovic, T.; Menkovic, N. 2010.** Antioxidant, cytotoxic, and antimicrobial activity of *Alnus incana* (L.) ssp. *incana* Moench and *A. viridis* (Chaix) DC ssp. *viridis* extracts. J Med Food; 57(16): 116-125.
- 37. Tortora, G.; Rey, S. 2002.** Principios de Anatomía y Fisiología. Novena edición. Editorial University Oxford Press- México.
- 38. Torres, O. 1985.** Etnomedicina en la sierra central peruana. Instituto Nacional de Cultura Departamental de Junín. Huancayo-Perú.

39. **Trott, A.** 2007. Heridas y cortes, tratamiento y sutura de urgencia. Editorial Elsevier. Madrid – España.
40. **Vila, J.** 1997. Tecnología Farmacéutica. Volumen II. Editorial Síntesis S.A. España.
41. **Villar del Fresno, A.** 1999. Farmacognosia General .Editorial Síntesis S.A. Madrid- España.
42. **Villar, A. y Mendocilla, M.** 2009. Farmacología de las plantas medicinales. (Monografía en línea). Programa Nacional de Medicina Complementaria – PRONAMEC, Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima; 124(16): 12-105.
43. **Vermeulen, H.; Van Hatten, J.; Store-Verslot, M.** 2007. Planta tópica para el tratamiento de las heridas infectadas (Revisión Cochrane traducida en la Biblioteca Cochrane Plus). Oxford; 19(5): 56-100.
44. **Yu, Y.; Miyashiro, H.; Nakamura, N.; Hattori, M.** 2007. Effects of triterpenoids and flavonoids isolated from *Alnus firma* on HIV-1 viral enzymes. Arch Pharm Res; 29(3): 4-130.

## **ANEXOS**

## ANEXO N°01

Clasificación Taxonómica de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".



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 Mitza, AGUILAR GUILLÉN, ha solicitado la Identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada e identificada según el Sistema de Clasificación de CRONQUIST. A. (1988), y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	HAMAMELIDAE
ORDEN	:	FAGALES
FAMILIA	:	BETULACEAE
GENERO	:	<i>Alnus</i>
ESPECIE	:	<i>Alnus acuminata</i> Kunth.
Nombre vulgar.	:	"aliso"

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

Ayacucho, 16 de Julio del 2012

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
*[Firma]*  
Jefe del Herbarium Huamangensis

## ANEXON°02

### Certificado sanitario del material biológico



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD  
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS  
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 256-2012

Producto : Ratón albino  
Especie : Mus musculus  
Cepa : Balb/c/CNPB  
Peso : 15 a 24 gr.

LoteN° : M-39-2012  
Cantidad : 35  
Edad : 25 a 32 días  
Sexo : Machos

G.R.N° : 026500

Destino : Aguilar Guillen, Mitza  
Ayacucho

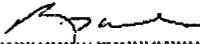
Fecha : 27-09-2012

El Médico Veterinario, que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias \* .

\*Referencia: PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

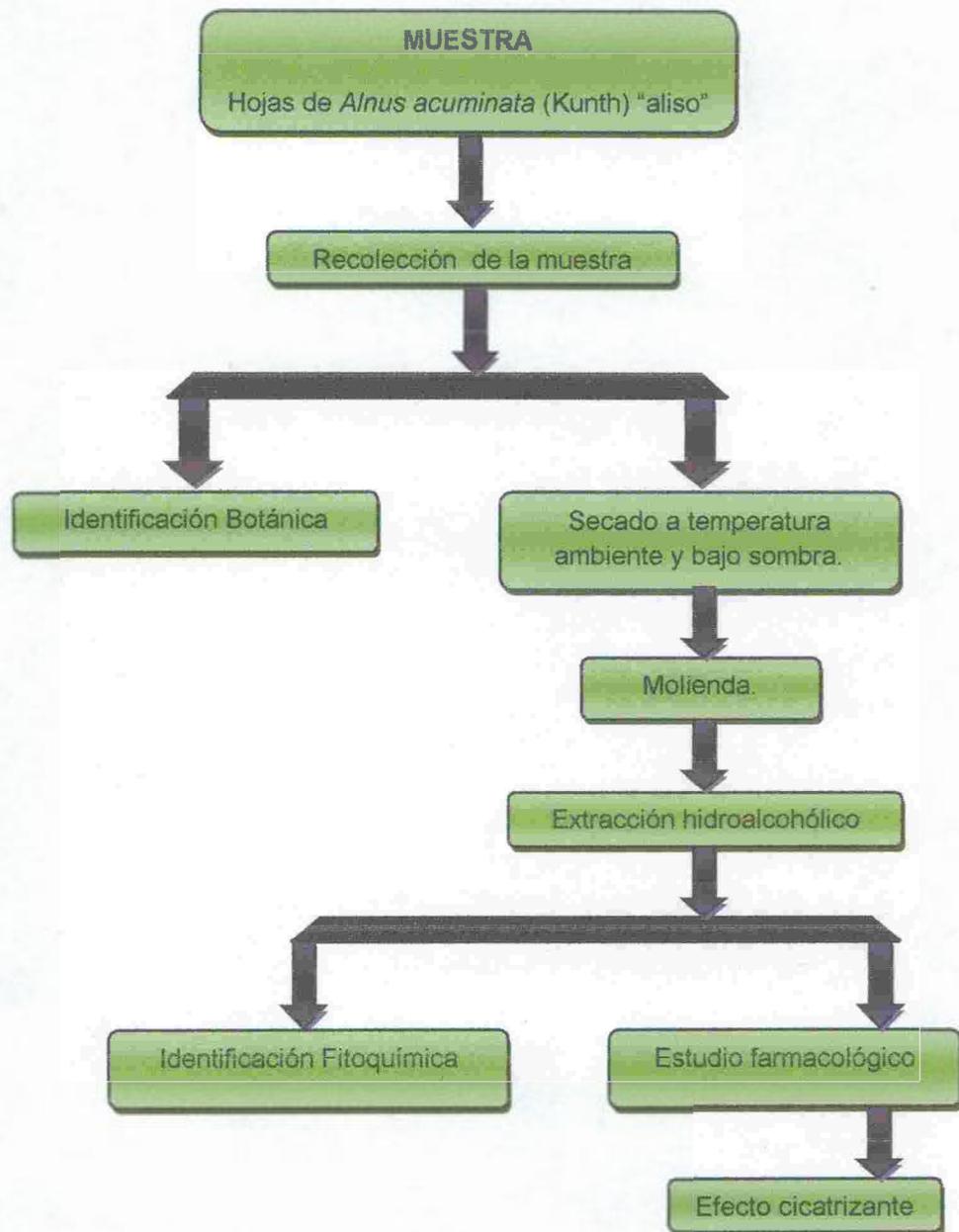
Chorrillos, 27 de Septiembre del 2012  
(Fecha de emisión del certificado)

NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.

  
M.V. Arturo Rosales Fernández.  
C.M.V.P. 1586

### ANEXO N° 03

Protocolo de procedimiento metodológico de la especie de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".



**ANEXO N° 04**

Planta de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Distrito de Quinua. Ayacucho – 2012.



## ANEXO N°05

Recolección de la hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Distrito de Quinua en horas de la mañana. Ayacucho–2012.



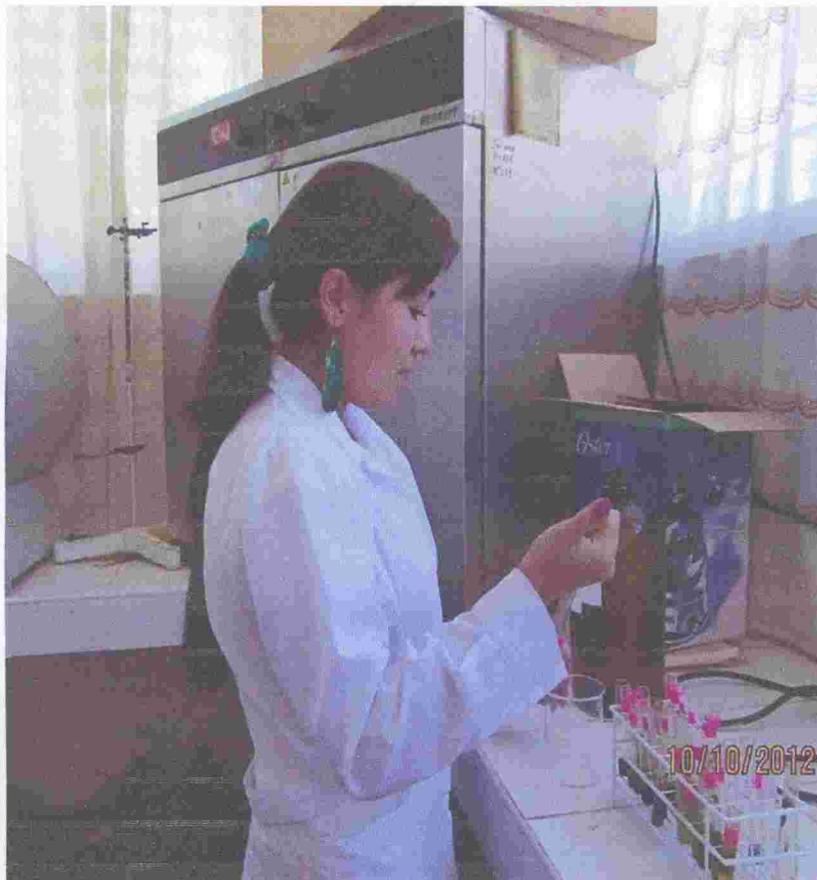
**ANEXO N°06**

Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".



## ANEXO N°07

Identificación de los compuestos químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".



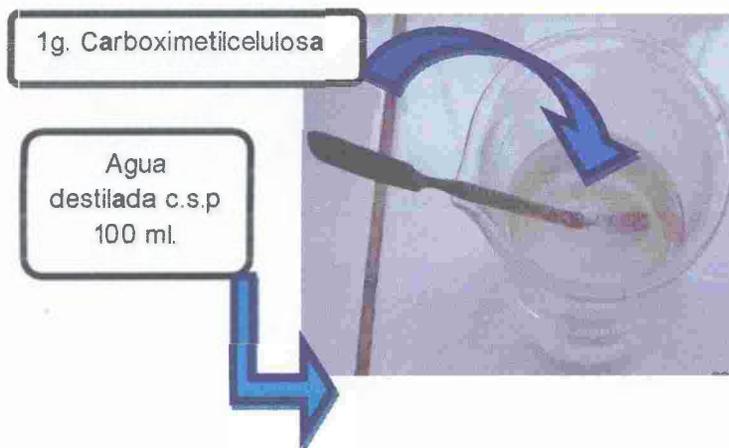
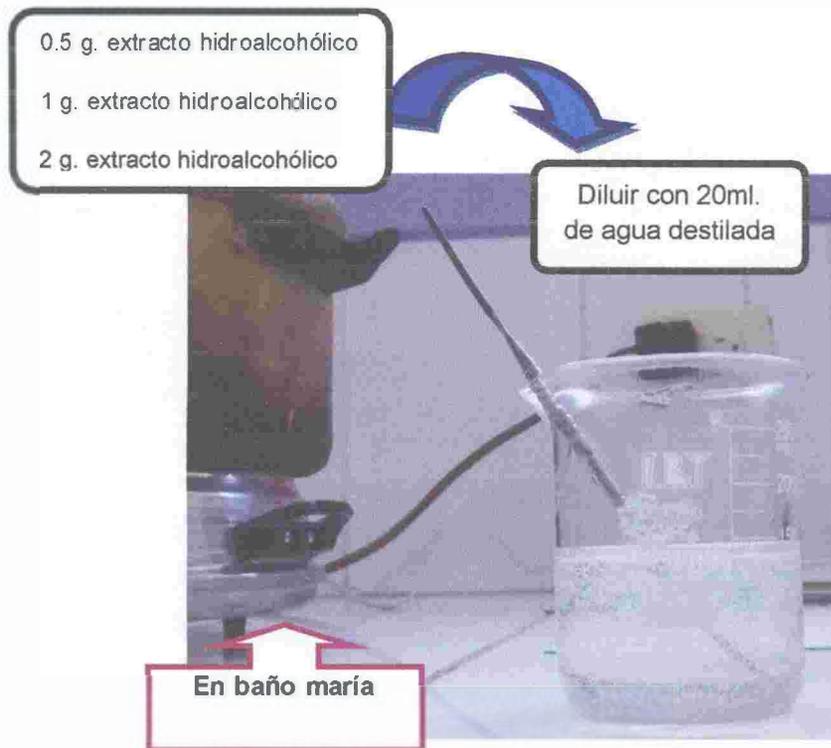
## ANEXO N° 08

Identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".



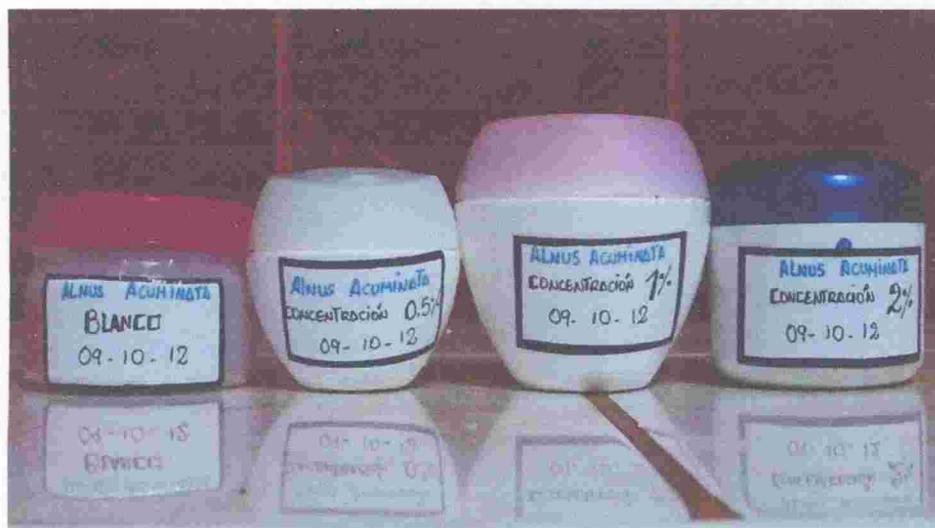
## ANEXOPP N° 09

Flujograma de preparación del extracto hidroalcohólico a diferentes concentraciones en carboximetilcelulosa.



## ANEXO Nº 10

Concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".



## ANEXO Nº 11

Ratones albinos agrupados aleatoriamente, utilizados para la evaluación del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".



## ANEXO N° 12

Incisión y sutura en los ratones. Laboratorio de Farmacología de la Escuela de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – 2012.



### ANEXO Nº 13

Uso del equipo de tensión en ratones.



## ANEXO N° 14

Observación de la tensión ejercida en ratones.



## ANEXO N° 15

Valores de resistencia a la tensión en mililitros del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho – 2012.

Tratamientos	Blanco (gel)	Estándar: Polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides citricos 1% (Dermaclin Pius®)	Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso". en Carboximetilcelulosa		
			0,5%	1%	2%
1	26,2	31,5	32,2	39,5	46,0
2	26,0	33,1	35,0	41,9	45,3
3	27,1	35,0	35,2	42,3	45,5
4	25,4	32,3	34,4	40,5	48,0
5	27,0	33,0	35,8	39,2	49,8
6	25,7	29,5	32,4	45,0	45,1

## ANEXO Nº 16

Resultado del análisis de varianza de la resistencia a la tensión (mililitros) por el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho – 2012.

### ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Resistencia a la tensión (mL)	Inter-grupos	1520,695	4	380,174	132,603	,000
	Intra.grupos	71,675	25	2,867		
	Total	1592,370	29			

## ANEXO Nº 17

Resultado de la prueba de Tukey de los promedios de tensión (mililitros) para evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho – 2012.

### Resistencia a la tensión (mL)

HDS de Tukey<sup>a</sup>

Tratamientos	N	Subset for alpha = ,05			
		1	2	3	4
Blanco	6	26,2333			
Dermaclin	6		32,4000		
0,5%	6		34,1667		
1,0%	6			41,4000	
2,0%	6				46,6167
Sig.		1,000	,392	1,000	1,000

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000

ANEXO N° 18

Matriz de consistencia del proyecto de investigación  
AUTOR: AGUILAR GUILLÉN, Mitza

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso" - Ayacucho - 2012.	¿Tendrá efecto cicatrizante el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso"?	<b>Objetivo General:</b> •Evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso". <b>Objetivos Específicos:</b> •Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso". •Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso" con mayor efecto cicatrizante. •Comparar el porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso" con un estándar (Dermaclin Plus®).	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso" posee efecto cicatrizante.	<b>Variable independiente:</b> Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso". <b>Indicadores:</b> Concentraciones de 0,5%; 1% y 2% del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso". <b>Variable dependiente:</b> Efecto cicatrizante <b>Indicador:</b> Resistencia a la tensión expresada en mL.	<b><i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso".</b> -Clasificación taxonómica -Descripción botánica Es un árbol de porte mediano, de hasta 20 m de altura y de 20 cm a 70 cm de diámetro. Tiene el fuste recto y la copa desde el segundo tercio. -Propiedades y usos medicinales -Metabolitos secundarios implicados en el proceso de cicatrización. <b>La herida.</b> Es toda solución de continuidad en la cubierta cutánea. <b>Cicatrización normal de la herida.</b> La cicatrización implica diferentes etapas, tales como: una respuesta inmediata a la lesión, la hemostasia; una fase inflamatoria; la epitelización; neovascularización; síntesis de colágeno; y la contracción y remodelación de la herida.	<b>Nivel de investigación.</b> Experimental <b>Población.</b> Hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso", que crecen en el distrito de Quinua, provincia de Huamanga - Región Ayacucho. <b>Muestra.</b> 3 Kg de hojas de <i>Alnus acuminata</i> (Kunth) "aliso" recolectadas al azar. <b>Unidad experimental:</b> Se utilizarán 30 ratones albinos machos, de la especie <i>Mus musculus</i> , de dos meses de edad, con un peso de 20-25g que serán adquiridos del Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos-Lima. <b>El método</b> a utilizar es el propuesto por Howes E. Se fundamenta en la adición de la fuerza de tensión ejercida necesaria para abrir una herida incisa de 1 cm de longitud producida en el tercio superior del lomo del ratón. <b>Diseño experimental:</b> Diseño Completamente randomizado. Los ratones serán divididos de manera aleatoria en cinco grupos cada uno con repeticiones de seis ratones. <b>Análisis estadístico:</b> Mediante el Análisis de Varianza (ANOVA), y de comparaciones múltiples de la Prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

## Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho 2012.

Mitza Aguilar Guillén<sup>1</sup>, José Manuel Díez Macavilca<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga

### RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló con la finalidad de evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", realizado en los Laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Las hojas fueron recolectadas en el distrito de Quinoa, provincia de Huamanga, región de Ayacucho. Se obtuvo el extracto con etanol al 80%, los metabolitos secundarios fueron evidenciados mediante el procedimiento de Miranda y Cuellar (2000), y la actividad cicatrizante por el test de Howes (1929), en 30 ratones albinos distribuidos en cinco grupos, el primer grupo fue el blanco, el segundo el estándar y el tercer, cuarto y quinto grupo recibieron 0,5%, 1% y 2% respectivamente del extracto. Los metabolitos secundarios determinados fueron: taninos y fenoles, flavonoides, catequinas, terpenos y esteroides. Los volúmenes promedio de cicatrización fueron: 34,17 mL, 41,40 mL y 46,62 mL a las dosis ensayadas de los extractos respectivamente, mientras que el blanco fue de 26,23 mL y el estándar (Dermaclin Plus®) 32,40 mL. El ANOVA de los tratamientos demostró que existe diferencia significativa entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ).

Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" presentó efecto cicatrizante.

**Palabras clave:** Efecto cicatrizante, *Alnus acuminata* (Kunth).

### ABSTRACT

This research was developed in order to evaluate the healing effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Alnus acuminata* (Kunth) "alder", performed in the laboratories of Pharmacy and Biochemistry, National University of San Cristobal de Huamanga. The leaves were collected in the district of Quinoa, Huamanga province, Ayacucho region. Extract was obtained with 80% ethanol, the secondary metabolites were evidenced by the method of Miranda and Cuellar (2000), and healing activity test by Howes (1929), in 30 female rats divided into five groups, the first was the target group, the standard second and third, fourth and fifth group received 0.5%, 1% and 2% respectively of the extract. Secondary metabolites were determined: tannins and phenols, flavonoids, catechins, terpenes and steroids. The average volumes of healing were: 34.17 mL, 41.40 mL, 46.62 mL at the doses tested extracts respectively, while white was 26.23 and the standard mL (Dermaclin Plus®) 32, 40 mL. The treatments ANOVA showed significant difference between treatments ( $p < 0,05$ ).

We conclude that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Alnus acuminata* (Kunth) "Alder" present healing effect

Keywords: Healing effect, *Alnus acuminata* (Kunth).

### INTRODUCCIÓN

La curación de heridas es un tema muy antiguo como la historia del hombre, el hombre de Neanderthal en Irak 60 000 años A.C. uso hierbas contra quemaduras y según el papiro de Smith los apósitos datan desde 5000 años A.C. en el antiguo Egipto ya se usaban como apósito el barro, goma, resinas, miel, mirra y sustancias oleosas. Por otro lado Hipócrates trataba a las heridas con vino, cera de abeja, roble sagrado, aceite y azúcar, escuela que incluso se mantiene en nuestros días (Andrades y Col., 2004).

Cuando el organismo sufre una lesión, se inicia una reacción compleja de todo el cuerpo y casi de inmediato se inician los esfuerzos para reparar los tejidos dañados (Brady, 1992). La cicatrización es la unión de los bordes de una herida cualquiera, con el restablecimiento de la continuidad dermo-epidérmica (Martini, 2005). Muchos tipos de células están involucradas en dicho proceso tales como: plaquetas, macrófagos y fibroblastos (Morales, 2007). La infección de la herida es una de las complicaciones quirúrgicas más frecuentes y una causa importante de morbilidad (Vermeulen y Col., 2007).

Sea cual fuere su origen, el tratamiento de las heridas en gran medida se ha venido desarrollando en base a una terapéutica natural exclusiva, principalmente con el uso de plantas medicinales administradas de varias formas como la vía tópica, ya que la terapia antibiótica sólo constituye un recurso preventivo ante probables infecciones y no garantiza una buena y rápida cicatrización propiamente dicha (Quick, 2002).

*Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", es una planta originaria nativa de México, América central y América del sur, utilizada en el tratamiento de múltiples padecimientos, entre ellos utilizado por su efecto cicatrizante, el cual ha creado especial interés en su investigación. Lo que se busca es que el *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", sirva como una alternativa medicamentosa para el tratamiento de heridas ya que las

lesiones epiteliales generan la necesidad de una cicatrización, por lo tanto debemos apresurar dicho proceso de regeneración. Teniendo en cuenta que no hay estudios sobre la propiedad cicatrizante de esta planta, se realizó el estudio sobre el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".

Por tal motivo, en el presente trabajo de investigación se plantean los siguientes objetivos:

#### Objetivo General

- Evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".

#### Objetivos Específicos

- Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso".
- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" con mayor efecto cicatrizante.

Comparar el porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" con un estándar (Dermaclin Plus®).

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### UBICACIÓN

El presente trabajo de Investigación se realizó en los Laboratorios del Área Académica de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de Julio a Diciembre 2012.

#### MATERIALES

##### Población

Plantas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", que crecen en el distrito de Quinoa, provincia de Huamanga, región de Ayacucho.

#### Correspondencia:

Mitza Aguilar Guillén: mitza2@hotmail.com  
 Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.  
 Fac. Ciencias Biológicas - Av. Independencia s/n.  
 Ciudad Universitaria

**Muestra**

Se utilizó una muestra de un kilogramo de hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", recolectadas al azar, durante el mes de abril en el distrito de Quinua, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a 3396 m.s.n.m. Una parte de la muestra se llevó al Herbarium Huamangensis para su identificación y clasificación botánica.

**Animales de experimentación**

Se trabajó con 30 ratones albinos, *Mus musculus*, machos, de 22 – 24 g de peso y de 25 a 32 días de edad, en buen estado de salud con buena alimentación y agua. Los ratones fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos - Chorrillos – Lima y se mantuvieron con alimento balanceado y agua por unas semanas en el bioterio de Farmacología.

**DISEÑO METODOLÓGICO****Procedimiento para la recolección de muestra**

Para la recolección, selección y secado de la muestra, se realizó siguiendo los procedimientos establecidos por Villar del Fresno (1999). Se seleccionó las hojas intactas, se lavaron con abundante agua y se secaron a la sombra, en una habitación ventilada, sobre papel periódico, aproximadamente por una semana, para su posterior reducción de tamaño a partículas, haciendo uso de un mortero de porcelana hasta obtener un polvo fino.

**Preparación del extracto hidroalcohólico de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso"**

La muestra seca y molida se maceró en un frasco de color ámbar por una semana aproximadamente, en alcohol de 80°, éste cubrirá la muestra por un centímetro de diferencia. Durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se procedió a filtrar al vacío. Se evaporó el extracto a presión reducida en el rotavapor a una temperatura menor o igual a 50°C, hasta lograr un extracto de consistencia blanda, conservando refrigerado.

**Tamizaje fitoquímico del *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso"**

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuellar (2000).

**Preparación de las concentraciones del extracto de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso"**

Se gelificó el extracto hidroalcohólico al 0,5%, 1%, 2% con la finalidad de que exista una mejor adherencia, permanencia y absorción del extracto en la zona de sutura en los ratones, en el test de cicatrización.

La gelificación se realizó disolviendo 0,5; 1; 2 g de la muestra (extracto hidroalcohólico seco) en 20 mL de agua destilada; luego se añadió agua destilada c.s.p 100 mL y se procedió a calentar, para luego añadir un gramo de carboximetilcelulosa.

**Determinación del efecto cicatrizante**

**Método experimental:** Se usó el Método de Howes, que se basa en el fundamento de test de cicatrización "medición de la resistencia de la herida a la tensión" (Arroyo y Col., 2004).

**Test de cicatrización:** Es la medida de la fuerza de tensión ejercida y necesaria para abrir una herida de un centímetro de largo en toda su longitud, realizada en el tercio superior del lomo del ratón.

**Procedimiento:**

- Se depiló el lomo del ratón en un área aproximada de dos centímetros cuadrados, esto se realizó veinticuatro horas antes, con el fin de descartar una reacción alérgica a la crema depiladora marca Veet®.
- Se pesó a los ratones y luego se les agrupó aleatoriamente dividiéndolos en cinco grupos.

- Se anestesió con pentobarbital sódico 1 mL / 2,5 kg; para una buena manipulación.
- Luego se realizó la incisión de un centímetro de largo en el lomo del ratón, previamente se desinfectó la zona.
- Se unió los bordes de la herida y se suturó con un punto triple utilizando seda negra 6/0.
- Se inició inmediatamente con la administración de la primeras dosis de los diferentes tratamientos a cada grupo: extractos hidroalcohólico al 0,5%; 1% y 2%; blanco (gel); polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos 1% (Dermaclín Plus®) cantidad necesaria hasta recubrir la herida cada doce horas, por un período de tres días.
- Pasadas las 72 horas se procedió a sacrificar al ratón con una sobredosis de pentobarbital sódico 1%.
- Al momento de quitar el punto de sutura se colocó al animal en posición de cúbito ventral sobre el aparato de tensión.
- Se insertaron las agujas del aparato de tensión a 0,5 cm de los bordes de la herida y se dejó caer el líquido contenido en la bureta al vaso hasta que generará la tensión que abrió la herida en toda su longitud (Arroyo y Col., 2004).

El porcentaje de actividad cicatrizante, se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Act} = \frac{Xa - Xb}{Xb} \times 100$$

**Dónde:**

% Act = Porcentaje de actividad cicatrizante

Xa = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado con los extractos.

Xb = Fuerza promedio para abrir la herida del grupo sin tratamiento (blanco) (Arroyo y Col., 2004).

**Diseño experimental**

El diseño empleado es el diseño completamente randomizado. Las concentraciones elaboradas serán sometidas a la actividad cicatrizante, los animales de experimentación serán divididos de manera aleatoria en cinco grupos, con seis repeticiones para cada grupo:

- Grupo I: Blanco (gel).
- Grupo II: Estándar: Polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos 1% (Dermaclín Plus®).
- Grupo III, IV y V: Extracto hidroalcohólico al 0,5%; 1% y 2% de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", respectivamente.

**3.4 ANÁLISIS DE DATOS**

Los resultados a obtenerse se representarán mediante cuadros y gráficos. La diferencia significativa existente entre los tratamientos será evaluada a través del análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. Las comparaciones entre cada tratamiento se harán con la Prueba HSD de Tukey, para cuyo efecto se recurrirá al uso del programa SPSS versión 16,0.

**RESULTADOS**

Cuadro Nº 01. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho – 2012.

Metabolitos Secundario	Reactivos y/o Reacciones	Resultados	Observaciones
Fenoles y/o taninos	Tricloruro férrico	+++	Coloración verde intenso
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración rojo intenso
Saponinas	Espuma	+	Formación de espuma
Azúcares reductores	Benedict	++	Precipitado rojo ladrillo
Catequinas	Catequinas	+++	Halo fosforescente
Terpenos y/o esteroides	Lieberman y Burchard	+++	Coloración azul verdoso.
Lactonas y cumarinas	Baljet	++	Rojo oscuro
Alcaloides	Dragendorff	+	Ligero precipitado naranja oscuro
	Mayer	+	

Gráfico Nº 02. Porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho – 2012.

**DISCUSIÓN**

Las plantas medicinales juegan un papel muy importante en el mantenimiento de la salud, siendo así que se estima, se utilizan unas 10 000 especies vegetales, con este propósito. Pero más importante que la gran variedad de flora que existe a nivel mundial es el estudio de cada especie. Investigar y estudiar las propiedades que tienen dichas plantas para poder explotarlas en su totalidad (Salazar, 2009). El uso de la medicina tradicional sigue estando muy extendido en los países en vías de desarrollo. En muchos países del mundo, los responsables de las políticas, los profesionales sanitarios y el público debaten con preguntas sobre la seguridad, la eficacia, la calidad, la disponibilidad, la preservación y con el desarrollo, de éste tipo de atención sanitaria (Quick, 2002). Teniendo en cuenta que para conocer nuestro presente es necesario apelar al estudio de nuestro pasado, se debe incentivar y difundir la farmacología tradicional. Es así como se hace necesario investigar y demostrar la efectividad terapéutica de nuestra flora y como consecuencia la validación del efecto cicatrizante de la especie en estudio *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Diversos artículos publicados sobre temas botánicos, tales como "Caldasia" de Colombia, "Ticalia" de Guatemala, "Lankesteriana" de Costa Rica, entre otros, dan a conocer las diferentes contribuciones, especialmente investigaciones sobre la presencia de diferentes metabolitos en plantas superiores la mayoría de ellos con resultados prometedores. Dichas investigaciones incluyen al género *Alnus*, en donde se le otorga propiedades antiinflamatorias, cicatrizantes y por actuar como contenedor de hemorragias, entre otros (Rojas y Col., 2006). Para detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos de compuestos, se realizan las técnicas de "screening", que nos ayudan a evidenciar estos grupos de constituyentes mediante la formación de precipitados, coloraciones, etc. Estas reacciones se caracterizan porque son selectivas para las clases o grupos de compuestos que se investigan, son simples y rápidas, detectan la mínima cantidad posible y utilizan un mínimo de equipo de laboratorio (Miranda y Cuellar, 2000). Debido a esto, es que en el presente trabajo de investigación se realizó la determinación cualitativa de metabolitos secundarios, para lo cual se realizó una extracción con un disolvente hidroalcohólico en las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Se emplearon extractos hidroalcohólicos porque son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en la droga (Miranda y Cuellar, 2000).

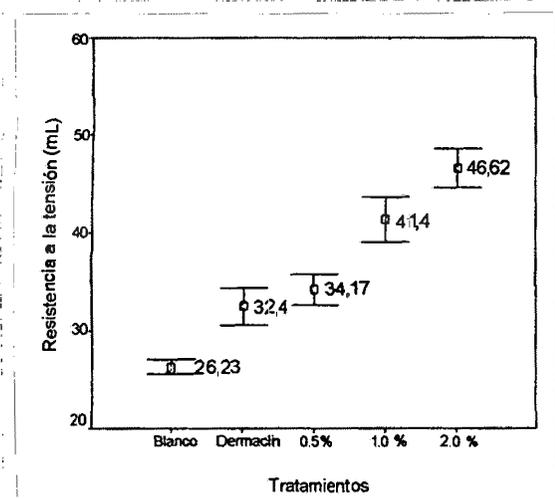
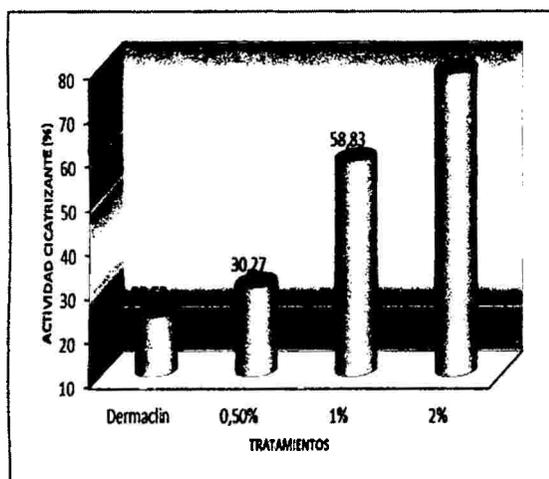


Gráfico Nº 01. Promedio de resistencia a la tensión en mililitros por efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho – 2012.



En el Cuadro Nº 01 se presenta a los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", donde se observa la presencia de flavonoides, fenoles y taninos, catequinas, terpenos y esteroides. Demostrándose que los metabolitos secundarios responsables del efecto farmacológico son principalmente los flavonoides (coloración rojo intenso), catequinas (halo fosforescente) y la presencia de taninos (coloración verde intensa). Quienes posiblemente le confieren el efecto cicatrizante a esta especie por tener la capacidad de regenerar los tejidos que favorecen la cicatrización de heridas. Hinostraza (2009), en un estudio realizado sobre el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni* "estevia". Reporta la presencia de compuestos fenólicos (flavonoides y taninos), esteroides y cumarinas entre otros, demostrando que los metabolitos secundarios responsables del efecto farmacológico, son específicamente los taninos y flavonoides. Flores (2010), en un trabajo de investigación realizado sobre el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cuchu". En el tamizaje fitoquímico destaca la presencia de flavonoides, taninos y catequinas, característica marcada en esta especie, quienes van a ser los responsables de la reparación tisular

como cicatrizante externo por su gran contenido de dichos metabolitos secundarios. Las aplicaciones de las drogas con taninos derivan de sus propiedades astringentes, antisépticas, protectores, antioxidantes. Mientras los flavonoides tienen la acción vitamínica P, son antihemorrágicos, antiinflamatorios, antibacterianos, antifúngicos (Kuklinski, 2003). La farmacología es una ciencia que utiliza principalmente la observación y la experimentación con el fin de analizar la acción de los principios activos provenientes de productos vegetales o sintéticos sobre los organismos vivos, recurriendo a las técnicas habituales de la física, química, fisiología y clínica. El método experimental empleado en farmacología es un método hipotético deductivo cuyas etapas son la contrastación de un hecho, el surgimiento de una idea a partir de este hecho, a la vista de esta idea se razona, se imagina y se inicia una experiencia, de esta experiencia surgen nuevos fenómenos que es necesario observar e interpretar, y así sucesivamente. La mente del investigador se encuentra siempre entre dos observaciones (Villar y Mendocilla, 2009). En el presente trabajo de investigación se busca evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", el cual se administró por vía tópica sobre el lomo de los ratones. Se utilizó el modelo experimental propuesto por Howes, que se basa en el fundamento del test de cicatrización. Todos los experimentos en cicatrización buscan agentes que aceleren el proceso de cicatrización de heridas, la mayoría de las heridas son reparadas espontáneamente. La evaluación de la resistencia de las heridas en el proceso de cicatrización, fue reportada por primera vez en 1929 por Howes y Col. En el Perú y a nivel mundial se evalúa el éxito de la cicatrización experimental de las plantas medicinales, utilizándose el método tensiométrico propuesto por Howes (Guillermo y Col., 2005). Las heridas son lesiones físicas que dan como resultado una apertura o ruptura de la piel. La curación adecuada de la herida es esencial para la restauración de la continuidad interrumpida. El objetivo de tratar una herida es principalmente para acortar el tiempo requerido para la curación o para reducir al mismo las consecuencias no deseadas (Raina y Prawez, 2008). Cuando un organismo sufre una lesión, la herida sangra y forma un coágulo que ayuda a detener la pérdida de sangre. Los vasos sanguíneos que rodean el sitio de la herida se dilatan, permitiendo que las células circulantes, oxígeno y materia nutritiva lleguen al área lesionada. Los fagocitos retiran los desechos. Los fibroblastos se multiplican en la herida y se combinan con los vasos sanguíneos en desarrollo para formar el tejido de granulación. Debido a la rápida capacidad regenerativa de la epidermis, en unos cuantos días quedará completamente cubierta la pequeña lesión (Brady, 1992).

El papel principal del excipiente es servir de soporte al principio activo que se desea aplicar sobre la piel, se sabe que el excipiente podrá influir en la penetración del principio activo hacia lugares más o menos profundos, situados por debajo de la zona de aplicación y contribuir de este modo a la eficacia del preparado (Vila, 1997). Es por éste motivo que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" fueron gelificados. Los geles se forman por agregación de partículas coloidales; los sistemas sólidos o semisólidos así formados están interpenetrados por un líquido. Dichas partículas se unen formando una malla entrelazada que confiere rigidez a la estructura, las mallas mantienen en su interior la fase continua. A menudo se requiere sólo un pequeño porcentaje de fase dispersa para conferir la rigidez (Aulton, 2004). Las concentraciones con las cuales se trabajó fueron al 0,5%, 1% y 2% de extracto hidroalcohólico en forma de gel, vehículo apropiado en preparaciones que se administra por vía tópica, utilizada para conferir la forma y el volumen necesario a una preparación líquida o semisólida (Flores, 2010). Usando la carboximetilcelulosa como vehículo adherente y prolongar así el contacto de los principios sobre la piel, en la preparación de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Se usó como

control carboximetilcelulosa, para descartar la posibilidad de un efecto cicatrizante de los componentes del gel. Y así hallar el porcentaje del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Se utilizó como referencia el Demaclín Plus®, estándar de la presente investigación. El cuál es un producto con un principio activo natural que permite aplicaciones para desinfección de heridas, cortes, quemaduras y otras afecciones de la piel. El Demaclín Plus® contiene polifenoles cuaternarios derivados de los bioflavonoides cítricos, que le dan dicho efecto (Flores, 2010). En el Anexo N° 15 se presenta las medidas de resistencia a la tensión en mililitros necesario para abrir la herida cicatrizada en los ratones por efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Cuando se ha producido una lesión, cualquiera que sea el mecanismo comienza la cicatrización normal de la herida a menos que haya interferencias o circunstancias que motiven a una reparación inadecuada de la herida (Trott, 2007). Para dicha evaluación se realizaron seis repeticiones por cada grupo, en donde el preparado del extracto hidroalcohólico al 2% presenta mayores volúmenes de tensión comparado a las demás concentraciones del extracto hidroalcohólico. Así mismo se pueden apreciar los volúmenes de tensión del Demaclín Plus®, en donde observamos que presenta volúmenes similares al 0,5% del extracto hidroalcohólico, tomando como referencia al blanco (sin tratamiento). Concluyendo que a mayor tensión nos indicara una mayor cicatrización. El análisis de varianza, es una prueba estadística el cual sirve para analizar si más de dos grupos difieren entre sí de manera significativa en sus medias y varianzas (Hernández y Col., 2006). En base a lo anterior se determina que existe la diferencia entre los grupos de tratamiento, diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) a un nivel de confianza del 95% (Anexo N° 16), lo que conduce a un rechazo de la hipótesis nula aceptando la hipótesis alterna, confirmando que los datos obtenidos son significativos con una desviación estándar aceptable. Sabemos que la probabilidad de que un evento ocurra oscila entre cero (0) y uno (1), donde cero significa la imposibilidad de ocurrencia y uno la certeza de que el fenómeno ocurra. El nivel de significancia de 0,05 implica que el investigador tiene el 95% de seguridad para garantizar sin equivocarse y sólo el 5% en contra. En términos de probabilidad 0,95 y 0,05 respectivamente, ambos suman la unidad (Hernández y Col., 2006). La presente investigación muestra que los resultados fueron significativos a nivel de 0,05 ( $p < 0,05$ ), indica lo que anteriormente se comentó; que existe 5% de posibilidad de error al aceptar la hipótesis, correlación o valor obtenido al aplicar una prueba estadística ó 5% de que se rechace una hipótesis nula cuando esta es verdadera (Hernández y Col., 2006).

En el Gráfico N° 01, se observa los valores promedios de resistencia a la tensión en mililitros por efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", representando las comparaciones múltiples de los tratamientos con la Prueba de Tukey para evaluar dicho efecto, los cuales presentan diferencia de volumen promedio de tensión blanco con 26,23 mL, demaclín plus con 32,40 mL y los extractos al 0,5%, 1%, 2% con 34,17 mL, 41,40 mL y 46,62 mL respectivamente, demostrando que dichos extractos presentan efecto directamente proporcional a la dosis-respuesta, lo que significa diferencia de tratamiento al 0,5%, 1% y 2% de extracto hidroalcohólico en comparación al blanco y al estándar. Ciertas concentraciones son más efectivas que el patrón y demuestra además que las heridas tratadas con bajas concentraciones muestran resultados muy inferiores en el efecto cicatrizante. La prueba de Tukey muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado parecido existente entre sus medias (Anexo N° 17), determinando así que el blanco (gel) difiere significativamente con el estándar y los extractos hidroalcohólicos al 0,5%, 1%, 2%. El extracto hidroalcohólico al 0,5% no difiere significativamente, es decir posee similar comportamiento con el estándar (Dermaciln plus®), pero difiere con los demás tratamientos; el extracto hidroalcohólico de 1% y al

2% difiere con los demás tratamientos. En el Gráfico Nº 02 se presenta el porcentaje de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", donde los resultados fueron: al 0,5% con 30,27%, al 1% con 57,83%, al 2% con 77,74% respectivamente, observando claramente que el mayor porcentaje de cicatrización se da al 2% en comparación al 0,5%, 1% de extracto hidroalcohólico. Mendoza (2010), en un estudio realizado sobre el efecto cicatrizante del extracto alcohólico del fruto de *Sambucus peruviana* "sauco", a concentraciones de 100 mg/kg, 500 mg/kg y 1000mg/kg de peso, demostró que la mejor eficacia resultó a 1000 mg/kg, obteniéndose un porcentaje de actividad cicatrizante de 313,48%. Siendo estadísticamente superior al resto de concentraciones y al blanco. Flores (2010), en un trabajo de investigación sobre el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cuchu", demostró que el extracto con mayor actividad cicatrizante entre las concentraciones de 0,5%, 1% y 2%, fue este último, ya que presentó el mayor porcentaje de efecto cicatrizante, con 85,12%, quien fue estadísticamente superior al estándar (Dermacilin Plus®), presentando un porcentaje de 20,19. El cual también se utilizó en el presente trabajo obteniéndose un resultado similar. Las lesiones que puede sufrir nuestro cuerpo son muy diferentes, desde una simple rozadura cutánea, a lesiones sumamente complicadas y graves (Díaz, 1998). 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 (Brady, 1992). Los resultados obtenidos en el presente trabajo contribuyen al conocimiento terapéutico y será una fuente de consulta para muchos investigadores. Como se sabe, el mercado farmacéutico viene desarrollando medicamentos como los cicatrizantes, antiinflamatorios, entre otros; motivo por el cual se realizó el presente trabajo de investigación. En donde afirmamos que se encontró experimentalmente diferencias del efecto cicatrizante entre las concentraciones del extracto. Así mismo se confirma la hipótesis de que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" posee actividad cicatrizante.

#### CONCLUSIONES

- 1.El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" presenta efecto cicatrizante.
- 2.El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", presenta los siguientes metabolitos secundarios: taninos y fenoles, flavonoides, catequinas, terpenoides, y en menor proporción: azúcares reductores y lactonas.
- 3.El mayor efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso" presenta al 2%, con un volumen de resistencia a la tensión necesaria para abrir la herida de 46,6 mL.
- 4.Se comparó los porcentajes de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso", encontrando que los extractos al 1% y 2% presentan mayor porcentaje de actividad cicatrizante.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar, M.; Rovelo, R.; Verjan, G.; Ilescas, O.; Baeza, A.; De La Fuente, M.; Navarrete, A. 2011. Antiinflammatory activities, triterpenoids, and diarylheptanoids of *Alnus acuminata* ssp. *Arguta*. *Pharm Biol*; 49(10): 1052-1057.
2. Aguirre, R.; De La Garza, L. 2003. Tratado de cirugía general. Asociación y Consejo Mexicano de Cirugía General. Editorial Manual Moderno S.A. México.
3. Andrades, P.; Sepúlveda, S. y González, J. 2004. Curación avanzada de heridas. *Revista Chilena de Cirugía*; 56(4): 396 - 473.
4. Arroyo, J.; Rojas, J. y Chenguayen, J. 2004. Manual de modelos experimentales de farmacología, Primera edición. Perú.
5. Aulton, M. 2004. Farmacia la Ciencia del Diseño de las

- Formas Farmacéuticas, 2da Edición, Editorial Elsevier. España.
6. Brady, R. 1992. Curso programado de anatomía y fisiología LA PIEL. Editorial Limusa. México.
7. Bruneton, J. 1991. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Editorial Acibia S.A. Zaragoza – España.
8. Berengust, G. 2008. Heridas y Cicatrización, Primera Parte, Módulo, Argentina; 18(4): 27-31.
9. Díaz, J. 1998. Manual básico de enfermería técnica y quirúrgica. Editorial Díaz de Santos S.A. Madrid. España.
10. Evans, W. 1991. Farmacognosia. 13 Edición. Editorial Interamericana Mc GRAW – HILL. México.
11. Flores, E. 2010. Estudio del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cuchu". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
12. Guillermo, F.; Bonilla, P. y Arroyo, J. 2005. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperonia scutellaeifolia* R. et P en geles aplicados a *Ratus norvegicus*. *Folia Dermatológica Peruana*, (Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales) Lima; 16(1):15-22.
13. Hernández, R.; Fernández, C.; Baptista, P. 2006. Metodología de la Investigación. 4ta Edición. Editorial Mc Graw Hill. México.
14. Hinojosa, M. 2009. Estudio del efecto cicatrizante del extracto alcohólico del fruto de *Sambucus peruviana* "sauco". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
15. Kim, S.; Kim, J.; Ahn, S.; Ahn, S.; Lee, Y.; Jeong, Y. 2004. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Alnus japonica* extracts on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Res. Phytother*; 18(24): 16-27.
16. Kuklinski, C. 2003. Farmacognosia; estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Primera Edición. Editorial Omega S.A. España.
17. Kuroyanagi, M.; Shimomae, M.; Nagashima, Y.; Muto, N.; Okuda, T.; Kawahara, N.; Nakane, T.; Sano, T. 2005. New diarylheptanoids from *Alnus japonica* and their antioxidative activity. *Chem. Pharm Bull. Tokyo*; 53(12): 23-112.
18. Lee, M.; Kim, Y.; Sung, S. 2011. Antifibrotic constituents of *Alnus firma* on hepatic stellate cells. : *Med. Chem. Lett Bioorg*; 21(10): 2-906.
19. Limaylla, C. 1984. Química de los Productos Naturales – Guía para los Métodos de Análisis Fotoquímicos. Impresiones Vicente. Tomo I. Ayacucho – Perú.
20. Litter, M. 1988. Compendio de farmacología. Cuarta edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires – Argentina.
21. Litter, M. 2001. Compendio de Farmacología. Cuarta edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires – Argentina.
22. Lock, O. 1994. Investigación fitoquímica. Editorial Fondo P.U.C.P. Segunda Edición. Lima-Perú.
23. Magallanes, C.; Aucasime, I.; Magallanes, M. 1995. "Conservación de plantas Alimenticias y Medicinales Nativas de la Provincia de Huamanga. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Instituto Superior Mons. Víctor Álvarez Huapaya. Ayacucho-Perú.
24. Martín, M. 2005. Introducción a la Dermofarmacia y a la Cosmología. Edición Acibia S.A. Zaragoza – España.
25. Mendoza, F. 2010. Estudio del efecto cicatrizante del extracto alcohólico del fruto de *Sambucus peruviana* "sauco". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
26. Miranda, M.; Cuéllar, Á. 2000. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Habana (Cuba). Editorial Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.
27. Morales, F. 2007. Temas Prácticos en Geriatría y Gerontología. Tomo I 1ra edición. Editorial Universal Estatal a distancia. Costa Rica.
28. Mostacero J, Mejía F. 1993. Taxonomía de fanerógamas peruanas. Editorial Libertad EIRL. Trujillo – Perú.

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R. D. Nº 481 – 2012 – FCB – D

Bach. MITZA AGUILAR GUILLÉN

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día viernes veintiuno de diciembre del dos mil doce, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas actuando como presidente encargado el Doctor Tomas Castro Carranza en su condición de decano de la Facultad de Ciencias Biológicas, con la asistencia de los docentes: Doctor Jhonny Aldo Tinco Jayo, Doctor Edwin Enciso Roca, Magister José Manuel Diez Macavilca y Magister Marta Romero Viacaba, actuando como secretaria docente la Magister Maricela López Sierralta para recepcionar la sustentación de Tesis: Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Alnus acuminata* (Kunth) "aliso". Ayacucho – 2012, presentado por la Bachiller, en Farmacia y Bioquímica MITZA AGUILAR GUILLÉN, quien pretende optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica.

El Decano inicia el acto de sustentación en un tiempo no mayor a cuarenta y cinco minutos, luego del cual se le realizaran las observaciones, aclaraciones y preguntas por parte del jurado calificador.

Luego el Decano solicita a la sustentante y al público para que abandonen el auditorio y el jurado pueda declarar y calificar como sigue:

JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	RESPUESTAS	PROMEDIO
Dr. Jhonny Aldo Tinco Jayo	17	17	17
Dr. Edwin Enciso Roca	18	18	18
Mg. José Manuel Diez Macavilca	18	18	18
Mg. Marta Romero Viacaba	17	17	17

Promedio total: 18

De la evaluación realizada el sustentante obtuvo la nota promedio de DIECIOCHO (18) de lo cual dan fe los miembros del jurado estampando su firma al pie de la presente. Culminando el acto de sustentación siendo las seis de la tarde.



---

Dr. Tomas Castro Carranza  
Presidente



---

Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo  
Miembro



---

Dr. Ewin Enciso Roca  
Miembro



---

Mg. José Manuel Díez Macavilca  
Miembro - Asesor



---

Mg. Marta Romero Viacava  
Miembro



---

Mg. Marcela Lopez Sierralta  
Secretaria - Docente