

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**

**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS,  
BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**“EFECTO CICATRIZANTE DE *Bidens pilosa* (amor seco) SOLA Y  
EN ASOCIACIÓN A *Lippia nodiflora* (tikil tikil) EN ANIMALES  
DE EXPERIMENTACIÓN. AREQUIPA-2014”**

**Tesis presentada por los bachilleres:**

**Gutierrez Vilca, Naider Yessenia**

**Herrera Barraza, Evelin Haydi**

**Para obtener el Título Profesional de Químico  
Farmacéutico**

**Asesor:**

**Mgter. María Elena Guillén Núñez**

**AREQUIPA – PERÚ**

**2015**

## AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Villanueva Salas, por transmitir sus conocimientos y por su apoyo constante.

A nuestra asesora de tesis, Mgter. María Elena Guillén Núñez, por su apoyo en la elaboración de la tesis.

Al Sr. Justo, Sra. Adita, Mario M. y a todos los que colaboraron para la realización de este trabajo de investigación.

A nuestros jurados Jaime Cárdenas García, Roxana Gutiérrez Aranibar, José Villanueva Salas.

**Naider y Evelin**

## DEDICATORIAS

A Dios

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Santos

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre Apolinar.

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mis hermanos

Por el apoyo y los consejos brindados ¡Gracias a ustedes!

A mi amor Elard

Por su apoyo, comprensión y amor brindado en los momentos más difíciles.

A mis amigas

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigas: Fiorella, Vannesa, Junior y a mi compañera de tesis Evelin.

**Naider Gutierrez Vilca**

A Dios

Forjador de mi camino, quién me levanta de mi continuo tropiezo, por mi salud y felicidad, por haberme permitido haber llegado hasta este momento y poder lograr mi objetivo, además por ofrecerme su infinita bondad inmerecida.

A mis padres:

Mami gracias por tu guía, ejemplo durante todos los años de mi vida, por tus concejos, tus valores, por el ejemplo de respeto, perseverancia, y constancia que te caracteriza y que me has infundado siempre, lo que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por tu gran amor. Papi, por enseñarme a ser fuerte a luchar contra todo, sin importar cuán débil esté el corazón.

A mis hermanas:

Camila por ser mi inspiración, ángel y mi alegría.

Daysi por la fuerza y seguridad que me dio, y cuando me dijo que todo irá bien siempre y ahora ya no hay miedos.

A mis amigos:

Candy, de la cuál he aprendido aciertos, por el aliento en momentos de flaqueza y la fe que nunca perdió en mí.

Vanessa, Fiorella, Lissi, Junior, Yajha., juntos aprendimos de nuestros tropiezos, y estuvieron ahí para levantarme, a ti mi compañera de tesis y amiga Naider.

**Evelin, Herrera Barraza**

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>5</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>7</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>8</b>

## CAPÍTULO I

<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>9</b>
1.1. <b>AMOR SECO</b> .....	<b>9</b>
1.1.1. Denominación Científica.....	9
1.1.2. Denominación común.....	9
1.1.3. Distribución taxonómica.....	9
1.1.4. Descripción botánica .....	10
1.1.5. Distribución.....	10
1.1.6. Usos medicinales .....	10
1.1.7. Otros usos .....	10
1.2. <b>TIKIL TIKIL</b> .....	<b>11</b>
1.2.1. Denominación Científica.....	11
1.2.2. Denominación común.....	11
1.2.3. Distribución taxonómica.....	11
1.2.4. Descripción botánica .....	12
1.2.5. Distribución.....	12
1.2.6. Usos medicinales .....	12
1.3. <b>FLAVONOIDES</b> .....	<b>13</b>
1.3.1. Estructura Química .....	13
1.3.2. Distribución de los Flavonoides .....	14
1.3.3. Clasificación de los Flavonoides.....	15
1.3.4. Propiedades Físicas de los Flavonoides .....	16
1.3.5. Función Biológica de los flavonoides .....	16
1.4. <b>TANINOS</b> .....	<b>17</b>
1.4.1. Propiedades .....	17

1.4.2. Características Físicoquímicas .....	18
1.4.3. Clasificación de los taninos .....	19
1.5. ALCALOIDES.....	19
1.5.1. Distribución de los Alcaloides .....	20
1.5.2. Propiedades físicas generales de los alcaloides.....	21
1.5.3. Función Biológica de los Alcaloides .....	21
1.5.4. Clasificación de los Alcaloides.....	22
1.6. CICATRIZACIÓN .....	23
1.6.1. Tipos de cicatrización.....	23
1.6.1.1 Cierre primario (primera intención).....	23
1.6.1.2 Cierre secundario (segunda intención) .....	23
1.6.1.3 Cierre terciario (tercera intención) .....	24
1.6.2. Fases de la cicatrización.....	24
1.6.2.1 Fase inflamatoria .....	24
1.6.2.2 Fase proliferativa .....	25
1.6.2.3 Fase de remodelación .....	26
1.6.3. Factores que afectan la cicatrización de heridas .....	28
1.6.3.1 Estado nutricional .....	28
1.6.3.2 Flujo sanguíneo y aporte de oxígeno .....	29
1.6.3.3 Reacciones inflamatoria e inmunitaria alteradas .....	30
1.6.3.4 Infección, dehiscencia de herida y cuerpos extraños .....	31
1.7. GELES.....	32
1.7.1. Tipos de geles .....	32
1.7.1.1 Dependiendo de su composición frente al agua. ....	32
1.7.1.1.1 Lipogeles .....	32
1.7.1.1.2 Hidrogeles.....	33
1.7.2. Según el número de fases en que están constituidos .....	33
1.7.3. Clasificación de los geles por su viscosidad .....	33
1.7.4. Clasificación de los geles por su estructura .....	33

## CAPÍTULO II

<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
2.1. CAMPO DE INVESTIGACIÓN .....	34
2.1.1. Ámbito geográfico .....	34
2.1.2. Unidades de estudio .....	34

2.1.2.1	Unidad vegetal .....	34
2.1.2.2	Unidad biológica .....	34
2.1.3.	Tipo de estudio y diseño de la investigación .....	35
2.2.	MATERIALES .....	35
2.2.1.	Material de vidrio .....	35
2.2.2.	Equipos .....	35
2.2.3.	Reactivos.....	36
2.2.4.	Otros .....	36
2.3.	producto farmaceutico .....	37
2.3.1.	Gel cicatrizante .....	37
2.3.1.1	Nombre comercial .....	37
2.3.1.2	Distribución de las unidades biológicas .....	37
2.3.1.2.1	Prueba piloto .....	37
2.3.1.2.2	Prueba Final.....	38
2.4.	METODOLOGIA .....	39
2.4.1.	Preparación del material vegetal.....	39
2.4.1.1	Recolección de la planta medicinal.....	39
2.4.1.2	Selección .....	39
2.4.1.3	Estabilización .....	40
2.4.1.4	Deseccación.....	40
2.4.1.5	Trituración .....	41
2.4.2.	Obtención de los extractos.....	41
2.4.2.1	Método de Percolación.....	41
2.4.3.	Método de concentración de extractos .....	43
2.4.3.1	Al vacío.....	43
2.4.4.	Determinación del rendimiento de las extracciones .....	44
2.4.5.	Cromatografía en capa fina (CCF) .....	44
2.4.6.	Fases móviles .....	45
2.4.7.	Reveladores .....	46
2.4.8.	Formulación y preparación de la forma farmacéutica.....	46
2.4.9.	Determinación del efecto cicatrizante.....	48
2.4.9.1	Acondicionamiento de los animales de experimentación.....	48
2.4.9.2	Selección aleatoria .....	48
2.4.9.3	Depilación .....	49
2.4.9.4	Incisión .....	50
2.4.9.5	Administración de los tratamientos.....	50
2.4.9.6	Procedimiento tensiométrico .....	51

2.4.10. Medidas estadísticas.....	52
2.4.10.1    Medidas de tendencia central .....	52
2.4.10.2    Estadísticas para la comparación de medias .....	52

## CAPÍTULO III

<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>54</b>
3.1.    tratamiento y obtencion de los extractos.....	54
3.2.    DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS.....	55
3.3.    DETERMINACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS.....	56
3.4.    ELABORACION DE LOS GELES CON EXTRACTOS .....	60
3.5.    EFECTO CICATRIZANTE .....	61
3.5.1. Prueba piloto .....	61
3.5.2. Prueba final.....	63
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>70</b>
<b>SUGERENCIAS .....</b>	<b>71</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>78</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1: Sistema de disolventes utilizados en cromatografía en capa fina .....	45
Tabla N°2: Sistema de reveladores para la cromatografía en capa fina.....	46
Tabla N°3: Formulación del gel de carbopol al 1.3% con extractos de drogas al 20% y 30% .....	47
Tabla N°4: Grupo de tratamiento y cantidad de heridas para la prueba piloto.....	48
Tabla N°5: Grupo de tratamiento y cantidad de heridas para la prueba final.....	49
Tabla N°6: Características de los extractos con etanol 96% de hojas de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) y hojas de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil).....	54
Tabla N°7: Porcentaje de rendimiento de los extractos de la planta <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil) .....	55
Tabla N°8: Porcentaje de rendimiento de los extractos de la planta <i>Bidens pilosa</i> (amor seco).....	55
Tabla N°9: Caracteres organolépticos del gel con extracto etanólico de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco).....	60
Tabla N°10: Caracteres organolépticos del gel con extracto etanólico de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil) .....	61
Tabla N°11: Prueba piloto, resistencia de la herida en gramos de arena.....	62
Tabla N°12: Prueba piloto, Test de Tukey resistencia de la herida en gramos de arena .....	63
Tabla N°13: Grupo control, resistencia de la herida en gramos de arena.....	64
Tabla N°14: Gel con extracto de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) al 20% resistencia de la herida en gramos de arena.....	65
Tabla N°15: Gel con extracto de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil) al 30% resistencia de la herida en gramos de arena.....	65

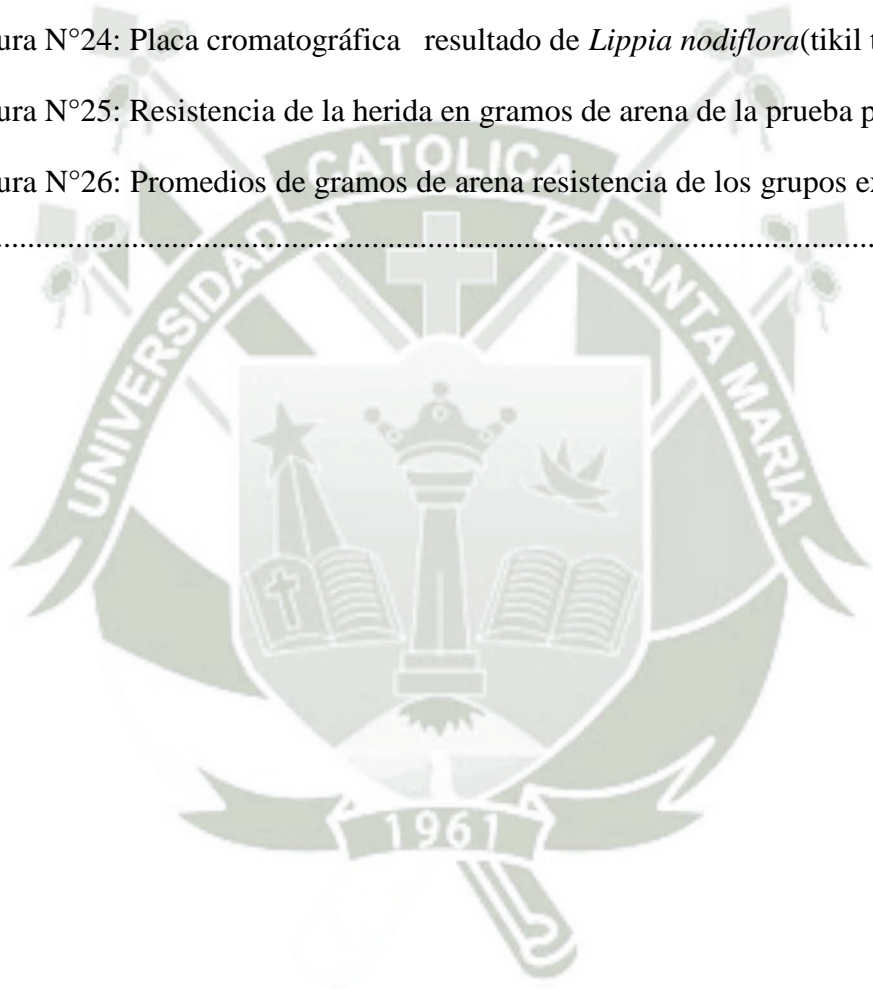
Tabla N°16: Gel con asociación de extractos al 30% (15:15) resistencia de la herida en gramos de arena.....	66
Tabla N°17: Especialidad farmacéutica cicatrizante en gel resistencia de la herida en gramos de arena.....	66
Tabla N°18: Anova de los gramos de arena de resistencia de la herida de los grupos experimentales.....	67
Tabla N°19: Test de Tukey de los gramos de arena de resistencia de los grupos experimentales.....	68

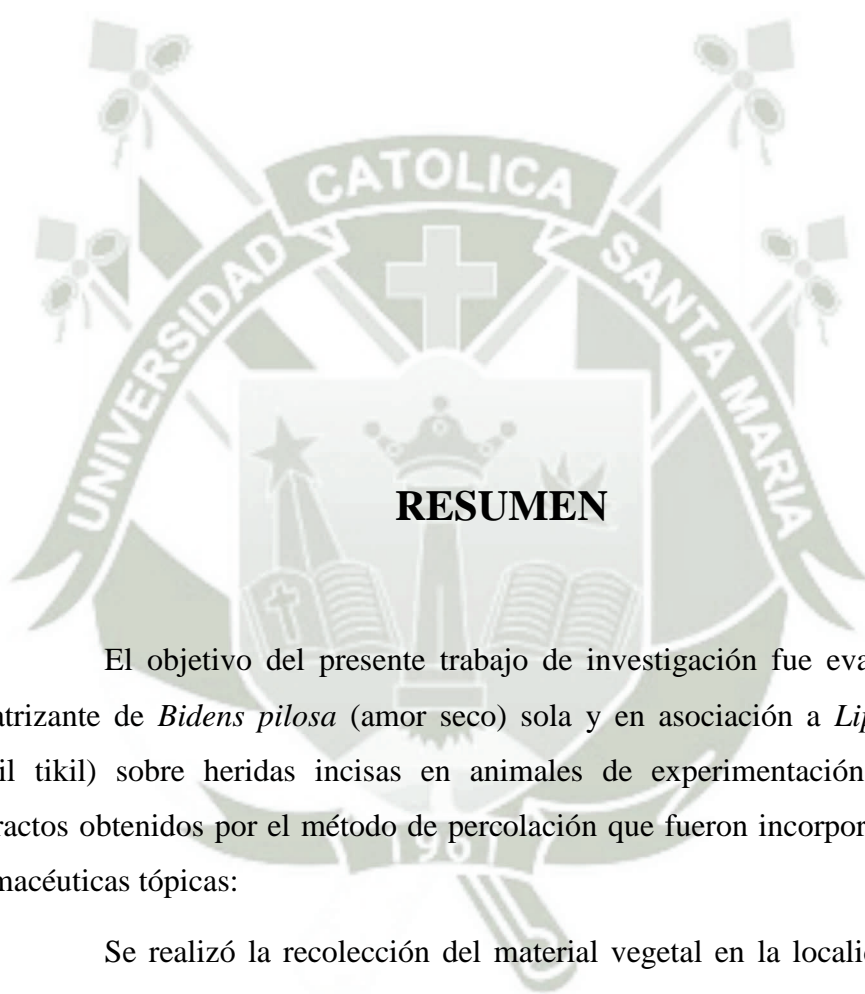


## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1: <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) .....	11
Figura N°2: <i>Lippia nodiflora</i> “tikil tikil” .....	12
Figura N°3: Estructura química general de los flavonoides .....	14
Figura N°4: Tipos de flavonoides .....	15
Figura N°5: Recolección de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) en la localidad de Majes.....	39
Figura N°6: Hojas seleccionadas de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil).....	39
Figura N°7: Estabilización de los materiales vegetales en estufa de desecación (Memmert) .....	40
Figura N°8: Hojas de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil) que presentan pesos constantes después de su desecación. ....	40
Figura N°9: <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) desecada para su trituración manual.....	41
Figura N°10: Procedimiento de extracción de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) mediante el equipo percolador.....	42
Figura N°11: Procedimiento de extracción de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil)mediante el equipo percolador.....	42
Figura N°12: Concentración al vacío de los extractos de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil)y la de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) mediante el equipo de Rotavapor.....	43
Figura N°13: Rata depilada con máquina de afeitar eléctrica en un área de 3.5 x 5 cm .....	49
Figura N°14: Inducción de la herida a las ratas hembras <i>Rattusnovergicus</i> .....	50
Figura N°15: Aplicación de los tratamientos en las heridas .....	51
Figura N°16: Tensiómetro para realizar la resistencia mecánica de la cicatriz. ....	52
Figura N°17: Placa <i>cromatográfica</i> de resultado de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) .....	57
Figura N°18: Placa <i>cromatográfica</i> de resultado de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil).....	57

Figura N°19: Placa <i>cromatográfica</i> Resultado con el extracto de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco).....	58
Figura N°20: Placa <i>cromatográfica</i> Resultado con el extracto de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil) .....	58
Figura N°21: Placa <i>cromatográfica</i> resultado de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco).....	59
Figura N°22: Placa <i>cromatográfica</i> resultado de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil) .....	59
Figura N°23: Placa <i>cromatográfica</i> resultado de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco).....	60
Figura N°24: Placa <i>cromatográfica</i> resultado de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil) .....	60
Figura N°25: Resistencia de la herida en gramos de arena de la prueba piloto. ....	62
Figura N°26: Promedios de gramos de arena resistencia de los grupos experimentales .....	68





## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar el efecto cicatrizante de *Bidens pilosa* (amor seco) sola y en asociación a *Lippia nodiflora* (tikil tikil) sobre heridas incisas en animales de experimentación, a través de extractos obtenidos por el método de percolación que fueron incorporados a formas farmacéuticas tópicas:

Se realizó la recolección del material vegetal en la localidad de Majes, una vez colectada fue desecada, posteriormente se procedió a triturarlo. Luego se procedió con la obtención de los extractos de ambos materiales vegetales (hojas de *Bidens pilosa* y hojas de *Lippia nodiflora*) mediante el método de percolación. Estos extractos fueron concentrados para su posterior análisis.

Con la obtención de los extractos concentrados se procedió a la realización de la marcha fitoquímica preliminar para determinar los metabolitos

secundarios presente en la planta. Esto se realizó mediante el método de cromatografía en capa fina, mediante esta técnica se identificó componentes pertenecientes a la familia de los terpenos, flavonoides, taninos y alcaloides.

Posteriormente se procedió a elaborar geles conteniendo 20 y 30% de los extractos de *Bidens pilosa* (amor seco) y de *Lippia nodiflora* (tikil tikil), para la elaboración de estos geles se utilizó como base el gel de carbopol.

En la prueba piloto se evaluaron los geles con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20% y otro al 30%, y los geles con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) también al 20% y otro al 30%, en presencia de un grupo control. Los cuales para la determinación del efecto cicatrizante, se utilizó el test de cicatrización descrito por Howes, para heridas incisas, teniendo como referencia un grupo control. La fuerza tensil que está directamente relacionada con la cicatrización, se midió mediante gramos de arena, llegando a la conclusión, que, mediante el análisis estadístico para realizar el estudio final, utilizaremos con respecto al *Lippia nodiflora* (tikil tikil) el gel con 30% de este extracto y el gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20% en estas concentraciones.

Para la prueba final se utilizó los geles seleccionados, en la prueba piloto, también la asociación de extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) y extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30%, estos fueron evaluados en presencia no solo de un grupo control sino también de una especialidad farmacéutica en gel (CICATRICURE®) con actividad cicatrizante. Al hacer el análisis de ANOVA se demostró la eficacia cicatrizante a la concentración del 20% de amor seco y 30 % de tikil tikil aun nivel confianza del 0.05, pero comparando estos grupos a un nivel de confianza al 0.05 el test de Tukey, permitió observar específicamente que no existen diferencias entre los grupos tratados con la especialidad farmacéutica en gel (CICATRICURE®), con el gel con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30%, y el gel con la asociación de los extractos al 30%; estos son estadísticamente diferentes al grupo tratado con gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20%. Por lo que se concluye que el gel con extracto de amor seco al 20% es el de mayor eficacia cicatrizante a un nivel de confianza del 0.05 bajo un esquema experimental en ratas de laboratorio.

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the healing effect of *Bidens pilosa* alone and in association with *Lippia nodiflora* (tikil tikil) on incised wounds in experimental animals "dry love" through extracts obtained by percolation method were incorporated into topical dosage forms:

Collection of plant material is held in the town of Majes, once collected was dried, then proceeded to crush. Then proceeded with obtaining extracts of both plant material (leaves and *Bidens pilosa nodiflora Lippia* sheets) by the method of percolation. These extracts were concentrated for further analysis.

By obtaining the concentrated extracts proceeded to the completion of the preliminary phytochemical action to determine the present secondary metabolites in the plant. This was done by the method of thin layer chromatography, using this technique components belonging to the family of terpenes, flavonoids, tannins and identified alkaloids.

Then we proceeded to prepare gels containing 20 and 30% of extracts of *Bidens pilosa* and *Lippia nodiflora* (tikil tiki) for the preparation of these gels are used as the basis carbopol gel.

In the pilot test were evaluated gels *Bidens pilosa* extract "dry love" and another 20% to 30%, and Lippia gels nodiflora extract (tikil tikil) also at 20% and another 30% in the presence a control group. For determining which of scar healing effect test described by Howes et al, was used to incised wounds, with reference to a

control group. The tensile strength is directly related to healing was measured by grams of sand, concluding that, by statistical for the final study analysis, use with respect to "tikil tikil" gel with 30% of this extract and extract gel "dry love" 20% at these concentrations.

Selected gels were used in the pilot, for the final test also the association extract *Bidens pilosa* "dry love" and extract *Lippia nodiflora* (tikil tikil) to 30%, these were evaluated in the presence not only of a group Control but also a medicinal gel (CICATRICURE®) with healing activity. Upon ANOVA analysis the healing efficacy was demonstrated at the concentration of 20% solids love and 30% of tikil tikil even confidence level of 0.05, but comparing these groups at a confidence level of 0.05 Tukey's test, allowed to observe specifically that there are no differences between the groups treated with the proprietary gel (CICATRICURE®) with the gel with extract of *Lippia nodiflora* (tikil tikil) to 30%, and the gel with the association of the extracts at 30%; these are statistically different gel treated with extract of "dry love" 20% group. So it is concluded that the dry extract gel love is 20% higher healing efficacy to a confidence level of 0.05 under an experimental scheme in laboratory rats.

## INTRODUCCIÓN

La utilización de plantas medicinales como tratamiento “inocuo” y “barato” es una alternativa presente en nuestra población, y probablemente en muchos otros sitios. Es probable también que lo inocuo se refiera a la calidad de ser tratamientos naturales, y lo barato a que no demanda mayor gasto el aplicar el zumo o la compresa sobre la zona afecta. En el caso del tratamiento de heridas (accidentales, quirúrgicas, etc.) la población recurre a tratamientos naturales, que pueden ser inocuos y baratos pero que muchas veces no son realmente eficaces, es decir, que no han sido evaluadas bajo un estudio científico que determine si presentan alguna actividad terapéutica en el tratamiento de heridas, de tal modo que se justifique su uso dejando de lado tratamientos convencionales que si tienen eficacia probada, pero que muchas veces no son naturales o no tienen costos accesibles.

Amor seco cuyo nombre científico *Bidens pilosa* es una hierba anual que se desarrolla en cualquier época del año, crece en los bordes de caminos, andenes abandonados y cerca de canales de regadío que los campesino utilizan como “vulnerable”, es decir, para resolver heridas en la piel, también es usada toda la planta para aliviar el reumatismo, enfermedades de los riñones y el dolor de cabeza. Respecto a esta planta medicinal existen estudios sobre su actividad antimicrobiana y antiulcerosa, <sup>(6)</sup> pero respecto a la actividad cicatrizante tópica no hay estudios disponibles que refrenden dicha actividad.

Por otro lado tikil tikil cuya denominación científica es *Lippia nodiflora* es una hierba perenne rastrero ampliamente utilizado en el sistema tradicional de la medicina para el tratamiento de úlceras, bronquitis y enfermedades del corazón; también posee la propiedad antidiabética,<sup>(1)</sup> para esta planta existen estudios preclínicos en animales de experimentación además de la tradición que señalan la *Lippia nodiflora* (tikil tikil) como un tratamiento prometedor – a nivel clínico – de las heridas en la piel.



## OBJETIVOS

- Obtención de los extractos de hojas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y *Bidens pilosa* (amor seco) por el método de percolación.
- Realizar un análisis fitoquímico preliminar de los extractos de *Bidens pilosa* (amor seco) y de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) por cromatografía en capa fina.
- Elaborar geles con los extractos de hojas de *Bidens pilosa* (amor seco), *Lippia nodiflora* (tikil tikil) solas y asociadas.
- Evaluar la eficacia cicatrizante del gel con extracto de hojas de *Bidens pilosa* (amor seco), del gel con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil), y del gel con los extractos asociados, en heridas de primera intención en animales de experimentación.
- Comparar el efecto cicatrizante de los geles con los extractos de hojas *Bidens pilosa* (amor seco), *Lippia nodiflora* (tikil tikil), como también ambos extractos asociados y con un medicamento comercial en gel con actividad cicatrizante.

## HIPÓTESIS

Dado que la medicina tradicional atribuye efectos benéficos en el tratamiento de heridas a las especies de *Bidens pilosa* (amor seco) y *Lippia nodiflora* (tikil tikil) es probable que los extractos en gel tengan efecto cicatrizante, solas o asociadas en animales de experimentación.

## CAPÍTULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1.1. AMOR SECO

##### 1.1.1. Denominación Científica

*Bidens pilosa*<sup>(6)</sup>

##### 1.1.2. Denominación común

“perk’a”, “pirka”, “senk’ata”, “amor seco”, “paqonqa”.<sup>(6)</sup>

##### 1.1.3. Distribución taxonómica

- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsidae
- Subclase: Asteridae
- Orden: Asterales
- Familia: Asteraceae
- Género: *Bidens* (Tourn).
- Especie: *Bidens pilosa*

FUENTE: CONSTANCIA N° 14-2014-HUSA

#### 1.1.4. Descripción botánica

Hierba anual, glabras cuadrangulares. Hojas pecioladas, peciolo de 1-5cm de largo, las superiores constituidas por 3-5 folíolos lanceolados, aovados, de ápice acuminado base truncada, margen aserrado, glabras en ambas superficies, hojas inferiores generalmente enteras. Capítulos solitarios, involucro acampanado de 8mm de alto por 10mm de diámetro, filarias; las externas lineales; flores de radio neutras, de color blanco, amarillas flores del disco numerosas hermafroditas, tubulosas glabra de 4mm de largo. Aquenios lineales tetragonales, papus constituido por 3 aristas con pelos retrorsos. <sup>(6)</sup>

#### 1.1.5. Distribución

Hierba anual se desarrolla en cualquier época del año, crece en los bordes de caminos, andenes abandonados y cerca de canales de regadío. Desde los 900-3300 msnm. <sup>(6)</sup>

#### 1.1.6. Usos medicinales

Se usa tomando los mates realizados utilizando toda la planta para aliviar el reumatismo, enfermedades de los riñones y el dolor de cabeza. El mate de las hojas es utilizado para el tratamiento del dolor del estómago. Las hojas molidas de esta planta junto con las hojas de “remillo” y pepas de naranja (3-5) con el jugo de medio limón para la colerina. Por otra parte las hojas molidas de esta planta con las hojas de alfalfa se recomiendan también para la colerina. Las hojas molidas y el extracto para el manejo de escaldaduras y heridas sangrantes. <sup>(6,10)</sup>

#### 1.1.7. Otros usos

Los pobladores la consumen diariamente como refresco y verdura en sus comidas. Es consumido como forraje por los animales. <sup>(6)</sup>



**Figura N°1: *Bidens pilosa*(amor seco)**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

## 1.2. TIKIL TIKIL

### 1.2.1. Denominación Científica

*Lippia nodiflora* <sup>(6)</sup>

### 1.2.2. Denominación común

“tikil tikil” <sup>(6)</sup>

### 1.2.3. Distribución taxonómica

- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsidae
- Subclase: Asteridae
- Orden: Lamiales
- Familia: Verbenaceae
- Género: Lippia
- Especie: *Lippia nodiflora* (HBK) Grene

FUENTE: CONSTANCIA N° 14-2014-HUSA

#### 1.2.4. Descripción botánica

Hierba perenne, rastrera, rizomatosa, ramas de 20-40 cm de longitud. Tallos rastreros, cilíndricos radicales en los nudos, ramosos, las ramas jóvenes pubescentes, los tallos principales hasta 2m de largo y 1 cm de diámetro. Hojas con peciolo corto, opuestas, obovadas a oblanceoladas, atenuadas en la base, obtusas o ligeramente agudas en el ápice, aserradas, canopubescentes en ambas superficies o subglabras en el haz, de 1-2.5cm de longitud por 0.5-1 cm de anchura. Flores sésiles en la axila de las brácteas imbricadas, reunidas en espigas capituliformes largamente pedunculadas (pedúnculos de 1-5cm de largo), axilares, globosas en la floración y cilíndricos al fructificar. Corola blanco violácea de 2-3mm de largo, tubo breve, limbo labiado, estambres 4, insertos en el tubo corolino, filamentos cortos. Ovario súpero, estilo corto, estigma lateral. Fruto esquizocarpo con 2 mericarpos que se disgregan en la madurez. <sup>(6)</sup>



**Figura N°2: *Lippia nodiflora* “tikil tikil”**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### 1.2.5. Distribución

Hierba rizomatosa que crece formando comunidades cerca de canales de regadío, campos de cultivo desde los 900-2400msnm. <sup>(6)</sup>

#### 1.2.6. Usos medicinales

Se usa las ramas haciéndolas hervir y lavarse con el agua para el tratamiento de heridas. También se muelen las hojas y se aplican como emplasto. Las

hojas también se muelen y se toma el zumo para aliviar el dolor de estómago. Las infusiones de las hojas se deben tomar para aliviar el dolor de estómago. <sup>(6)</sup>

### 1.3. FLAVONOIDES

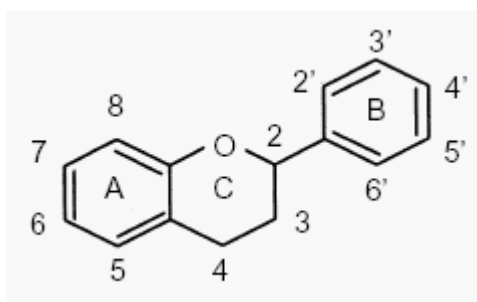
#### GENERALIDADES

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. <sup>(10,30)</sup>

Estos compuestos fueron descubiertos por el premio Nobel Szent-György, quien en 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C<sub>2</sub> (porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C). Sin embargo, el hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950. <sup>(10,30)</sup>

#### 1.3.1. Estructura Química

Se denominan como flavonoides a varias clases de sustancias naturales que contienen dos anillos aromáticos unidos mediante una cadena de tres átomos de carbono (compuestos C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub>) que se encuentran ampliamente distribuidas en los vegetales y que son biosintetizadas en parte a partir del ácido shikímico y en parte a partir de la acetilcoenzima A vía malonilCoA (biosíntesis mixta). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'. La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química. <sup>(30,54)</sup>



**Figura N°3: Estructura química general de los flavonoides**

FUENTE KUKLLINSKI C.: FARMACOGNOSIA, ESTUDIO DE LAS DROGAS Y SUSTANCIAS MEDICAMENTOSAS DE ORIGEN NATURAL

### 1.3.2. Distribución de los Flavonoides

Los flavonoides son compuestos polifenólicos (con grupos hidroxilo en los anillos aromáticos) que están ampliamente distribuidos en las plantas superiores, principalmente en las partes aéreas: hojas, raíces, flores y frutos. Específicamente se ubican en las vacuolas de los órganos mencionados otorgándoles colores característicos. Las principales familias que contienen flavonoides son: Rutaceas, Polygonaceas, Asteraceas y Umbelíferas (se encuentran mayoritariamente en las angiospermas y están ausentes en las algas).<sup>(30)</sup>

Los flavonoides en las plantas pertenecientes a estas familias pueden ubicarse en frutas, verduras, semillas y flores, así también se encuentra en la cerveza, vino, té verde, té negro y soja, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también pueden utilizarse en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales.

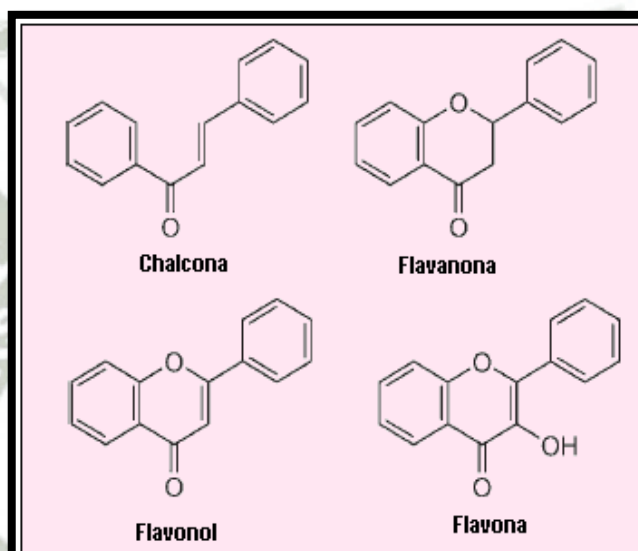
Los flavonoides se encuentran también en extractos de plantas como arándano, ginkgobiloba, cardo mariano o crataegus. Desempeñan un papel importante en la biología vegetal; así, responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. Otras funciones incluyen un papel antifúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre.<sup>(30)</sup>

Los flavonoides se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, apareciendo sólo rastros de ellos en las partes de la planta por debajo de

la superficie del suelo. Una excepción son los bulbos de cebolla, que contienen una gran cantidad de quercitina 4'-D-glucósidos.

### 1.3.3. Clasificación de los Flavonoides

Existe una clasificación diversa de los flavonoides, que se fundamenta en su estructura química, así podemos encontrar Chalconas, flavanona, flavonol, flavona y antocianinas. <sup>(30,54)</sup>



**Figura N°4: Tipos de flavonoides**

FUENTE KUKLLINSKI C.: FARMACOGNOSIA, ESTUDIO DE LAS DROGAS Y  
SUSTANCIAS MEDICAMENTOSAS DE ORIGEN NATURAL

Importante es saber que sea cual fuese la ordenación de los flavonoides para su clasificación, estos deben cumplir unas exigencias para su actividad farmacológica. Es decir, un flavonoide para ser bioactivo, deberá cumplir ciertos requisitos moleculares, los que se detallan a continuación:

La presencia en el anillo B de la estructura catecol u O-dihidroxi

La presencia de un doble enlace en posición 2,3

La presencia de grupos hidroxilo en posición 3 y 5.

#### 1.3.4. Propiedades Físicas de los Flavonoides

La solubilidad de los flavonoides va a depender de la forma en que se encuentren: los aglicones libres son insolubles en agua, poco solubles en mezclas hidroalcohólicas y solubles en disolventes orgánicos ya sean polares (etanol, metanol) o apolares (éter etílico, cloroformo); los heterosidos son solubles en agua y en mezclas hidroalcohólicas e insolubles en disolventes orgánicos apolares.

Son sustancias fácilmente oxidables y, por lo tanto antioxidantes porque se oxidan con mayor rapidez que otro tipo de sustancias. <sup>(10)</sup>

#### 1.3.5. Función Biológica de los flavonoides

Aunque todavía no se conoce exactamente el papel que desempeñan los flavonoides en los vegetales, se tienen algunas evidencias experimentales que sugieren que cumplen una o varias de las siguientes funciones:

Su capacidad de absorber ciertas radiaciones ultravioleta, los convierte en filtros solares para proteger los tejidos vegetales de radiaciones dañinas, y además se ha sugerido que participan en el proceso de la fotosíntesis.

Sus variados colores y su presencia en tejidos como los de las flores, sugieren que participan en procesos como la reproducción favoreciendo la atracción de insectos polinizadores.

Las diferentes actividades biológicas halladas para algunos de los flavonoides (antimicrobiana, antimicótica, etc.) y las evidencias experimentales de que algunos aumentan la resistencia de ciertas plantas contra diferentes infecciones y enfermedades vegetales (es decir que actúan como fitoalexinas), sugieren que estas sustancias también son un mecanismo químico de defensa vegetal.

La capacidad inhibidora de ciertas hormonas vegetales presentada por algunos flavonoides sugiere que actúan como reguladores del crecimiento vegetal. <sup>(10)</sup>

## 1.4. TANINOS

### Generalidades

Los taninos son conocidos por sus propiedades curtientes y astringentes, por lo que se han utilizado tradicionalmente en la industria del cuero y en terapéutica como cicatrizantes en uso externo y antidiarreicos en uso interno.

El término tanino fue introducido por Seguin en 1796 para designar sustancias presentes en extractos vegetales capaces de combinarse con las proteínas de la piel, evitando su putrefacción y convirtiéndola en cuero. Estas sustancias tienen además otras propiedades comunes, como las de dar reacción con cloruro férrico, reducir el permanganato potásico y precipitar con gelatina. Las dos primeras señalan su carácter fenólico.

Sin embargo, hay algunos compuestos que se encuentran muy a menudo en los vegetales, tales como el ácido gálico, catequina o ácido clorogénico, etc., que poseen las mismas propiedades e incluso son parcialmente retenidos por el polvo de piel, pero no son verdaderos taninos y se les conoce como pseudotaninos. Como sabemos estos compuestos corresponden a un fenol simple, flavonoide y un ácido fenólico respectivamente.

Posteriormente y conociéndose los requerimientos estructurales Bate-Smith y Swain en 1962 dieron una definición admitida actualmente: “Compuestos fenólicos hidrosolubles, de masa molar comprendida entre 500 y 3000, que presentan, junto a las reacciones clásicas de los fenoles, la propiedad de precipitar los alcaloides, la gelatina y otras proteínas<sup>(30,54)</sup>”

#### 1.4.1. Propiedades

Curtido de piel: los taninos se intercalan entre las fibras de colágeno, (que es una macromolécula de naturaleza proteica) estableciendo uniones reversibles (interacciones hidrófobas, puentes de hidrógeno, etc.) e irreversibles (enlaces covalentes). El resultado son fibras que tienen resistencia al calor, al agua, a la abrasión y putrefacción. Esta última propiedad es debido a que las bacterias no disponen de un sustrato nutritivo (proteínas).

Para que se establezcan estos enlaces es necesaria una condición: la masa molar del tanino debe estar comprendida entre límites definidos. Si es demasiado

elevada la molécula no puede intercalarse entre los espacios interfibrilares de la macromolécula, pero si es demasiado baja la molécula de tanino se intercala aunque no puede formar un número suficiente de enlaces como para asegurar la estabilidad de la combinación.<sup>(30,54)</sup>

De esta manera se llegaron a comprender los requerimientos estructurales de los taninos. Sus propiedades resultan de la acumulación de grupos fenólicos en un anillo aromático formando una molécula de tamaño moderado, es decir, con una masa molar comprendida entre 500 y 3000. Este dato fue el indicativo para formular la segunda definición de Bate-Smith y Swain en 1962, ya señalada en un inicio.

Precipitación de otras macromoléculas: los taninos son capaces de reaccionar con las proteínas salivares y glucoproteínas de la boca, por lo que la saliva pierde su poder lubricante y se obtiene un efecto astringente.<sup>(30,54)</sup>

#### 1.4.2. Características Físicoquímicas

Los taninos constituyen como muchos principios activos una familia muy numerosa, sin embargo, tienen características físicoquímicas más o menos comunes:

Forman sólidos amorfos. Solubilidad: los taninos están constituidos por grupos fenólicos y azúcar, por lo tanto, son solubles en agua (forman soluciones coloidales) y en disolventes orgánicos polares (acetona, alcohol, glicerina) pero son insolubles en disolventes orgánicos apolares (éter etílico, cloroformo).

Capacidad de precipitar: con alcaloides, proteínas, celulosa y otras macromoléculas.

Capacidad de formar complejos (son agentes quelantes) con metales pesados (cobre, mercurio, cromo, estaño, cinc, etc.). Por esta razón, algunas veces se utilizan como antídoto en intoxicaciones causadas por estos metales pesados (algunos los denominan contravenenos).

Propiedades redox: se oxidan con facilidad, sobre todo en medio ácido.

Estabilidad: son moderadamente estables. Los taninos hidrolizables se hidrolizan fácilmente en medio ácido mientras que los taninos condensados son más resistentes a la hidrólisis.

Tienen gusto amargo y suelen acumularse en las raíces, cortezas y en menor medida en las hojas.<sup>(30,54)</sup>

### 1.4.3. Clasificación de los taninos

Taninos Hidrolizables o Pirogálicos: Son ésteres fácilmente hidrolizables formados por una molécula de azúcar (en general glucosa) unida a un número variable de moléculas de ácidos fenólicos (ácido gálico o su dímero, el ácido elágico). Son comunes de observar en plantas Dicotiledóneas. <sup>(10,30)</sup>

Taninos No Hidrolizables o Condensados (catéquicos o proantocianidicas): Son dímeros o polímeros flavánicos con uniones carbono-carbono entre las diferentes unidades de flavan-3-ol. Se forman por polimerización de las catequinas y leucoantocianos. <sup>(10)</sup>

Además de encontrarse en Dicotiledóneas se producen también en helechos y leucoantocianos. Son muy resistentes a la hidrólisis. Solo resultan afectados por la hidrólisis ácida y enzimática que rompe ciertos enlaces) y se obtienen antocianidinas. Este tipo de taninos abunda por ejemplo en la cáscara y semillas de la uva, variedad oscura (*Vitisvinifera*) y en las hojas del Té verde (*Camelia sinensis*).

Por lo general los taninos catéquicos actúan más que nada como astringentes (diarreas) y hemostáticos. Como antidiarreicos pueden generar por administración oral irritación gástrica. De ahí que se suelen administrar combinados con albúmina o gelatina. En cambio las leucoantocianidinas presentan actividad antioxidante y vaso-protectoras. <sup>(10,30)</sup>

## 1.5. ALCALOIDES

### Generalidades

Los alcaloides son extremadamente difíciles de definir porque no representan un grupo de compuestos homogéneo, sea desde el punto de vista químico, bioquímico o fisiológico. Por lo tanto toda definición general debe formularse con reservas, excepto cuando se señala que todos son compuestos orgánicos nitrogenados. Su átomo de nitrógeno forma parte de un sistema heterocíclico y poseen una actividad farmacológica significativa; según algunos autores, provienen únicamente del reino vegetal.

El término alcaloide fue introducido por W. Meisner a principios del siglo XIX para designar las sustancias naturales que reaccionan como bases, como los *álcalis* (del árabe *al cali*, la sosa y del griego *eidos*, el aspecto), a veces es muy difícil establecer una frontera clara que separa los alcaloides de otros metabolitos nitrogenados naturales. <sup>(30,54)</sup>

Los alcaloides se forman a partir de aminoácidos, ejercen acciones fisiológicas diversas incluso a dosis muy bajas. Son tóxicos y capaces de precipitar con ciertos reactivos característicos. Hay sin embargo, determinadas sustancias que se consideran alcaloides y que no cumplen las características generales de los alcaloides. <sup>(30,54)</sup>

### 1.5.1. Distribución de los Alcaloides

Los principales productores de alcaloides son los vegetales, aunque se consideran también alcaloides ciertas sustancias procedentes de bacterias, insectos y otros animales. Los alcaloides no están presentes en todos los vegetales, se encuentran sobre todo en vegetales superiores. Los vegetales inferiores, las gimnospermas y las monocotiledóneas no producen prácticamente alcaloides, y dentro de las angiospermas, las dicotiledóneas concentran prácticamente todas las especies que poseen alcaloides. Dentro de las dicotiledóneas se pueden encontrar familias en las que abundan alcaloides (Solanáceas, Papaveráceas, Rubiáceas, Apocináceas) y familias más pobres en alcaloides (Rosáceas, Labiadas, Crucíferas)

En los vegetales los alcaloides suelen estar localizados en tejidos periféricos: corteza, raíces, hojas, frutos y semillas. Las proporciones varían desde ppm (partes por millón) para ciertas especies hasta valores que oscilan entre el 0,1 y el 3%, pudiendo ser incluso superiores en algunas drogas vegetales (como la corteza de quina, que puede tener hasta un 10%). <sup>(30,54)</sup>

En el vegetal, los alcaloides se encuentran en forma soluble, de sales (citratos, malatos, tartratos, meconatos, isobutiratos, benzoatos) o en combinación con taninos. La basicidad y las acciones antimetabólicas de la mayoría de estas moléculas imponen su compartimentación: Normalmente se almacenan en vacuolas celulares, ya sean estas específicas (en los lactíferos) o no. Normalmente la síntesis de estos alcaloides se realiza a nivel de determinados lugares (raíz en crecimiento,

células especializadas de los lactíferos, cloroplastos) y posteriormente son transportados a su lugar de almacenamiento. <sup>(30,54)</sup>

### **1.5.2. Propiedades físicas generales de los alcaloides.**

Los alcaloides que carecen de oxígeno son líquidos a temperatura ambiente y son frecuentemente volátiles, presentado un olor característico. Los alcaloides oxigenados suelen ser sólidos cristalizables y generalmente incoloros o blancos. Todos son en general amargos. En su forma libre son insolubles en agua y solubles en disolvente orgánicos polares (alcoholes) y apolares (éter, cloroformo, hexano), aunque hay excepciones como las sales xánticas que son solubles en agua. Todos los alcaloides que están en forma de sal son solubles en agua y mezclas hidroalcohólicas e insolubles en disolventes orgánicos apolares. También hay excepciones como las sales del alcaloide reserpina que son solubles en disolventes orgánicos apolares. En mezclas hidroalcohólicas (HA, por ejemplo al 70%) son solubles tanto la forma libre como la sal. La solubilidad también depende del pH, ya que al variar el pH el nitrógeno básico está más o menos protonado. A pH ácido predomina la forma protonada soluble en agua y mezclas hidroalcohólicas. A pH básico los alcaloides están mayoritariamente en forma libre (no salina). <sup>(30,54)</sup>

### **1.5.3. Función Biológica de los Alcaloides**

Como ocurre con otros muchos metabolitos secundarios, se sabe muy poco del papel de los alcaloides en los vegetales. Las funciones que pueden desempeñar los alcaloides en el vegetal han sido objeto de múltiples estudios, siendo considerados por muchos autores como productos secundarios del metabolismo vegetal, sin ningún papel definido en las especies que los elaboran. Sin embargo, la complejidad y variedad estructural que presentan los alcaloides, con el consiguiente gasto energético para el vegetal, debe ser considerado como un factor en contra de esta teoría; este hecho ha determinado que otros autores aboguen por algunas de las siguientes hipótesis, justificativas, en mayor o menor grado, de la presencia de estos principios activos en las especies que los contienen: <sup>(30,54)</sup>

Papel como factores reguladores del crecimiento, comportamiento como sustancias de reserva nitrogenada para la síntesis proteica, productos finales de reacciones de detoxificación en los vegetales, haciendo inofensivas, mediante

procesos de mutilación, condensación, etc., a sustancias cuya acumulación puede ser lesiva para el vegetal, función protectora frente al ataque de distintos predadores, tanto por el sabor amargo que poseen muchos de estos principios como por la toxicidad que presentan

En este sentido, hay quien considera que este posible papel defensivo de los alcaloides sería tan solo una consecuencia de su presencia en el vegetal, y no una razón para su elaboración

Si bien es cierto que cada una de estas hipótesis sobre las supuestas funciones de los alcaloides podrían ser aplicadas a cada una de las plantas que los elaboran, no es menos cierto que el 85-90% de los vegetales cumple su ciclo vital sin necesidad de producir alcaloides, puesto que estas funciones son realizadas por otro tipo de compuestos tales como polifenoles, aminoácidos, etc. Esto ha llevado a pensar a distintos autores que los alcaloides podrían ser contemplados como productos de una experimentación metabólica que reflejaría un estado de evolución intermedio alcanzado por el vegetal.

En conclusión, si bien es mucho lo que se ha escrito acerca de las posibles funciones de los alcaloides en el vegetal, es poco lo que se puede afirmar en el momento actual sin correr el riesgo de incurrir en errores. <sup>(10)</sup>

#### 1.5.4. Clasificación de los Alcaloides

Los alcaloides han sido clasificados atendiendo a distintos criterios:

Origen botánico, según familia o género al que pertenecen las especies productoras (alcaloides de la coca, alcaloides del granado, alcaloides de la quina, etc.)

De acuerdo con sus propiedades farmacológicas (alcaloides midriáticos de las Solanáceas).

Según la presencia de nitrógeno cíclico o no cíclico

Según la naturaleza de las estructuras de que derivan (alcaloides quinoleínicos, alcaloides tropánicos, etc.) Si bien este último sistema clasificatorio ha sido objeto de amplio uso hasta épocas recientes, en la actualidad se tiende a considerar como criterio de elección del origen biosintético de los alcaloides. Esta clasificación biogénica, permite evidenciar la relación existente entre compuestos

aparentemente alejados desde el punto de vista estructural pero que, sin embargo, proceden de precursores comunes provenientes del metabolismo de un reducido grupo de aminoácidos.

## **1.6. CICATRIZACIÓN**

La cicatrización es un proceso biológico mediante el cual los tejidos vivos reparan sus heridas, se refiere en gran parte a la cicatrización de heridas en la piel, generalmente como parte de un tratamiento quirúrgico. Este proceso incluye tanto la regeneración de células epiteliales como la formación de una cicatriz de tejido conectivo y, por lo tanto, ilustra los principios generales que se aplican a todos los tejidos.<sup>(2,35)</sup>

### **1.6.1. Tipos de cicatrización.**

Existen 3 maneras de cicatrización según el tiempo transcurrido desde la lesión, grado de contaminación y de desvitalización tisular esta clasificación dirige la elección del método de cierre.<sup>(2,35)</sup>

#### **1.6.1.1 Cierre primario (primera intención)**

El cierre primario sólo es aconsejable en los cortes relativamente limpios con mínima contaminación y mínima pérdida o desvitalización tisular. Estas heridas están causadas con más frecuencia por fuerzas de corte. Pueden cerrarse con suturas, cintas adhesivas o grapas. La reparación es óptima cuando se lleva a cabo en el plazo de 6-8 horas desde la lesión. En la práctica este periodo varía dependiendo de grado de contaminación entre 6- 24 horas. Los tejidos cicatrizan por unión primaria, cumpliendo así las siguientes características: mínimo edema, sin secreción local, en un tiempo breve, sin separación de los bordes de la herida y con mínima formación de cicatriz.<sup>(2,35)</sup>

#### **1.6.1.2 Cierre secundario (segunda intención)**

Los infartos y úlceras cutáneas, cavidades de abscesos, punciones, mordeduras de animales sin relevancia estética y abrasiones de grosor parcial (conservación de la base dérmica) cicatrizan mejor por segunda intención. No se

cierra con suturas y se permite su cicatrización gradual por granulación que contiene miofibroblastos y finalmente reepitelización que cierre la herida por contracción. La herida cicatriza desde las capas profundas y desde sus bordes. El proceso de cicatrización es lento y generalmente deja una cicatriz inestética. <sup>(2,35)</sup>

### **1.6.1.3 Cierre terciario (tercera intención)**

También llamada cierre primario diferido, la cicatrización por tercera intención ocurre cuando dos superficies de tejido de granulación son aproximadas. Este es un método seguro de reparación de las heridas contaminadas, así como de las heridas sucias e infectadas y traumatizadas, con pérdida extensa de tejido y riesgo elevado de infección. Este método se ha utilizado extensamente en el campo militar y ha probado que tiene éxito después de un trauma excesivo relacionado con accidentes automovilísticos, incidentes con armas de fuego, o heridas profundas y penetrantes con cuchillos.

La herida abierta en cicatrización recupera gradualmente la suficiente resistencia a la infección que le permite un cierre no complicado. Generalmente esto se lleva a cabo cuatro a seis días después de la lesión. Este proceso se caracteriza por el desarrollo de yemas capilares y tejido de granulación. Cuando se lleva a cabo el cierre, los bordes de la piel y el tejido subyacente deben aproximarse y asegurarse con precisión. <sup>(2,35)</sup>

### **1.6.2. Fases de la cicatrización**

La cicatrización de heridas cutáneas se divide a menudo en tres fases: 1) fase inflamatoria, 2) fase de proliferación y 3) fase de maduración o remodelación. La duración de las fases es bastante predecible en la cicatrización de heridas por primera intención. En las que cicatrizan por segunda intención, el proceso depende de la magnitud de la lesión y del entorno en que se produce la cicatrización. <sup>(2,35)</sup>

#### **1.6.2.1 Fase inflamatoria**

La fase inflamatoria de la cicatrización comienza en el momento de la lesión y es un periodo crítico porque prepara el entorno de la herida para la cicatrización. Incluye hemostasia, y las fases vascular y celular de la inflamación.

Los procesos hemostáticos se activan en cuanto se produce la lesión. Existe constricción de los vasos sanguíneos dañados y se inicia la coagulación sanguínea mediante activación y agregación plaquetarias. Después de un breve periodo de constricción, estos mismos vasos se dilatan y los capilares aumentan su permeabilidad, lo que hace posible que el plasma y los componentes sanguíneos pasen al área lesionada. En las pequeñas heridas superficiales, el coágulo pierde líquido y se vuelve una costra dura y seca que protege el área. <sup>(2,35)</sup>

A continuación sigue la fase celular de la inflamación, marcada por la migración de leucocitos fagocíticos que digieren y eliminan organismos invasores, fibrina, residuos extracelulares y cualquier otra materia ajena. Los neutrófilos son las primeras células en llegar y casi siempre desaparecen hacia el tercer o cuarto día; ingieren bacterias y residuos celulares. En 24 horas a 48 horas, los macrófagos, que son células fagocíticas más grandes, entran en la herida y permanecen ahí por un periodo prolongado. Estas células derivan de los monocitos sanguíneos y son esenciales para el proceso de cicatrización. Sus funciones consisten en fagocitosis y liberación de factores de crecimiento que estimulan el crecimiento de células epiteliales, angiogénesis y atracción de fibroblastos. Cuando se produce un defecto importante en los tejidos más profundos, los neutrófilos y los macrófagos son necesarios para eliminar residuos y facilitar el cierre de la herida. Aunque la herida puede cicatrizar en ausencia de neutrófilos, no puede hacerlos en ausencia de macrófagos. <sup>(2,35)</sup>

#### **1.6.2.2 Fase proliferativa**

La fase proliferativa de la cicatrización casi siempre comienza en los 2 o 3 días siguientes a la lesión y puede durar hasta tres semanas en la cicatrización por primera intención. Los principales procesos durante este periodo se centran en la acumulación de tejido nuevo para llenar la herida. La célula clave durante esta fase es el *fibroblasto*. El fibroblasto es la célula de tejido conectivo que sintetiza y secreta colágeno y otros elementos intercelulares necesarios para la cicatrización de heridas. Los fibroblastos también producen una familia de factores de crecimiento que inducen angiogénesis, así como proliferación y migración de células endoteliales. <sup>(2,35)</sup> Entre 24 horas y 48 horas después de la lesión, los fibroblastos y las células endoteliales vasculares comienzan a proliferar para formar el tejido de granulación

que sirve como base para el desarrollo del tejido cicatricial. Este tejido es frágil y sangra con facilidad por numerosos capilares recién desarrollados. Las heridas que cicatrizan por segunda intención tienen más residuos necróticos y exudados que debe eliminarse, y participa mayor cantidad de tejido de granulación. Los vasos sanguíneos recién formados son permeables y permiten la salida de proteínas plasmáticas y leucocitos hacia los tejidos. <sup>(2,35)</sup>

El componente final de la fase proliferativa es la epitelización, que es la migración, proliferación y diferenciación de las células epiteliales en los bordes de la herida para formar una nueva capa superficial similar a la destruida por la lesión. En heridas que cicatrizan por primera intención, estas células epidérmicas proliferan y sellan la herida en 24 a 48 horas. Puesto que la migración de células epiteliales requiere una superficie vascular húmeda en la herida y se ve dificultada cuando la superficie es seca y necrótica, la epitelización se retrasa en las heridas abiertas hasta que se forma un lecho de tejido de granulación. Cuando se forma una costra sobre la herida, las células epiteliales migran entre ésta y el tejido viable subyacente; cuando una parte considerable de la herida ya se ha cubierto, con el tejido epitelial, la costra se desprende. <sup>(2,35)</sup>

En ocasiones se forma un exceso de tejido de granulación (carnosidad) que se extiende sobre los bordes de la herida, lo que impide la epitelización. La extirpación quirúrgica o cauterización química del defecto posibilita que la cicatrización continúe.

A medida que progresa la fase proliferativa, continúa la acumulación de colágeno y la proliferación de fibroblastos. La síntesis de colágeno llega a su punto máximo en 5 a 7 días y continúa durante varias semanas, según sea el tamaño de la herida. Alrededor de la segunda semana, los leucocitos ya casi han abandonado el área, el edema ha disminuido y la herida empieza a blanquearse conforme los pequeños vasos sanguíneos experimentan trombosis y se degeneran. <sup>(2,35)</sup>

### **1.6.2.3 Fase de remodelación**

La tercera fase de la cicatrización, el proceso de remodelación, comienza alrededor de 3 semanas después de la lesión y puede continuar durante 6 meses o más, según la magnitud de la lesión. Como indica su nombre, existe remodelación

continua del tejido cicatricial mediante la síntesis de colágeno por los fibroblastos y lisis por enzimas colagenasas simultánea. Como resultado de estos dos procesos, la configuración de la cicatriz se reorienta para incrementar la resistencia a la tensión de la herida. <sup>(2,35)</sup>

La mayor parte de las heridas no recupera la fuerza de tensión completa de la piel intacta cuando se completa la cicatrización. Las heridas suturadas con cuidado justo después de la operación tienen alrededor del 70% de la fuerza de la piel normal, sobre todo por la colocación de suturas. Esto permite que las personas se muevan con libertad después de una intervención quirúrgica sin temor de que la herida se abra. Cuando las suturas se retiran, casi siempre al final de la primera semana, la fuerza de la herida se aproxima al 10%, pero aumenta en las 4 semanas siguientes, primero con rapidez y luego con lentitud, hasta alcanzar una meseta alrededor del 70% al 80% de la fuerza de la tensión propia de la piel sin heridas al final del tercer mes. Una herida que cicatriza por segunda intención experimenta contracción de la herida durante las fases de proliferación y remodelación. Como resultado, la cicatriz que se forma es mucho más pequeña que la herida original. Desde el punto de vista cosmético, esto es conveniente porque reduce el tamaño del defecto visible. Sin embargo, la contracción del tejido cicatricial sobre articulaciones y otras estructuras corporales tiende a limitar el movimiento y causar deformidades. Como resultado de la pérdida de elasticidad, el tejido cicatricial que se estira no regresa a su longitud original. <sup>(2,35)</sup>

La formación de queloides es una anomalía en la reparación mediante tejido cicatricial. Los queloides son masas benignas semejantes a tumores causadas por la producción excesiva de tejido cicatricial. Tienden a desarrollarse en personas con predisposición genética y son más frecuentes en sujetos de rana negra, asiáticos, latinoamericanos y otros grupos étnicos con piel más oscura. Casi todos los queloides causan defectos cosméticos considerables, y algunos pueden alcanzar el tamaño suficiente para producir síntomas por deformidad o limitación de la movilidad articular. Hasta ahora, la mayor parte de la investigación se ha centrado en factores de crecimiento y vías de señalización, pero por desgracia aún no se han establecido medidas preventivas o terapéuticas. <sup>(2,35)</sup>

### 1.6.3. Factores que afectan la cicatrización de heridas

Muchos factores locales y sistémicos influyen en la cicatrización de las heridas. Aunque hay muchos factores que afectan a la cicatrización, la ciencia solo ha encontrado unas cuantas formas para acelerar el proceso normal de la reparación de heridas. Entre las causas de anomalías en la cicatrización de las heridas figuran: la desnutrición; el flujo sanguíneo y el aporte de oxígeno alterados, anomalías en las reacciones inflamatorias e inmunitarias; la infección, la dehiscencia de heridas y los cuerpos extraños. <sup>(2,35)</sup>

#### 1.6.3.1 Estado nutricional

La correcta cicatrización de las heridas depende en parte de las reservas adecuadas de proteínas, hidratos de carbono, grasas, vitaminas y minerales. La desnutrición lentifica el proceso de cicatrización y hace que las heridas cicatricen de forma inadecuada o incompleta. Las deficiencias de proteínas prolongan la fase inflamatoria de la cicatrización y afectan la proliferación de fibroblastos, la síntesis de colágeno y matriz proteínica, la angiogénesis y la remodelación de la herida. Los hidratos de carbono son necesarios como fuente energética para los leucocitos. Los hidratos de carbono también tienen un efecto ahorrador de proteínas y ayudan a evitar el uso de aminoácidos como fuente energética cuando se requieren para los procesos de cicatrización. Las grasas son elementos esenciales de las membranas celulares y necesarias para la producción de nuevas células.

Aunque casi todas las vitaminas son cofactores esenciales para las funciones diarias del organismo, las vitaminas A y C tienen una función esencial en el proceso de cicatrización. La vitamina C es necesaria para la síntesis de colágeno. Cuando hay deficiencia de vitamina C, la secuenciación de los aminoácidos no es la apropiada, no se producen las uniones correctas de los aminoácidos, los productos intermedios de la síntesis de colágeno no se eliminan de la célula, las heridas nuevas no cicatrizan de forma adecuada y las heridas antiguas pueden abrirse. La administración de vitamina C normaliza en poco tiempo el proceso de cicatrización. La vitamina A estimula y favorece la epitelización, la formación de capilares y la síntesis de colágeno. Esta vitamina también contrarresta los efectos antiinflamatorios de los corticosteroides y puede usarse para revertir estos efectos en personas con tratamiento esteroide crónico. Las vitaminas del grupo B son correceptores

importantes en las reacciones enzimáticas que contribuyen al proceso de cicatrización. Todas son hidrosolubles salvo la vitamina B12, que se almacena en el hígado y deben restituirse cada día. La vitamina D tiene un papel indirecto en la cicatrización de heridas porque previene trastornos hemorrágicos que contribuyen a la formación de un hematoma y la subsiguiente infección.<sup>(11)</sup>

La función de los minerales en la cicatrización de heridas no está tan bien definida. Los macrominerales, como el sodio, el potasio, el calcio y el fósforo, y los oligoelementos como el potasio, el calcio y el fósforo, y los oligoelementos como el cobre y el zinc, deben estar presentes para que la función celular sea normal. El zinc actúa como cofactor en diversos sistemas enzimáticos participantes en la proliferación celular. En estudios con animales se observó que el zinc favorece la reepitelización.<sup>(11)</sup>

#### **1.6.3.2 Flujo sanguíneo y aporte de oxígeno**

Los defectos de la cicatrización por disminución del flujo sanguíneo e hipoxia en la herida pueden ser el resultado de alteraciones en la herida (p.ej., hinchazón) o problemas de salud preexistentes. La enfermedad arterial y la afectación venosa son causas bien documentadas de cicatrización alterada de las heridas. En los traumatismos, el descenso del volumen sanguíneo puede ocasionar una reducción del flujo de sangre a los tejidos dañados.<sup>(11)</sup>

Para que se produzca la cicatrización, las heridas deben tener un flujo sanguíneo adecuado que aporte los nutrientes necesarios y elimine los desechos resultantes, las toxinas, las bacterias y otros residuos. Se requiere oxígeno molecular para la síntesis de colágeno y la destrucción de bacterias por parte de los leucocitos fagocíticos. Está demostrado que incluso una falta temporal de oxígeno puede conducir a la formación de un colágeno menos estable. Las heridas en tejidos isquémicos se infectan con mayor frecuencia que las localizadas en tejidos bien vascularizados. Los neutrófilos y los macrófagos requieren oxígeno para destruir los microorganismos que invaden el área.<sup>(11)</sup>

### 1.6.3.3 Reacciones inflamatoria e inmunitaria alteradas

Los mecanismos inflamatorios e inmunitarios participan en la cicatrización de heridas. La inflamación es esencial para la primera fase de cicatrización de las heridas y los mecanismos inmunitarios previenen las infecciones que alteran la cicatrización. Entre las situaciones que alteran la inflamación y la función inmunitaria destacan los trastornos de la función fagocítica, la diabetes mellitus y la administración terapéutica de corticosteroides. <sup>(11)</sup>

Los trastornos de la fagocitosis pueden dividirse en defectos extrínsecos e intrínsecos. Los extrínsecos son los que afectan a la atracción de células fagocíticas a la zona lesionada (p.ej., agentes inmunosupresores). Los trastornos fagocíticos intrínsecos se producen por deficiencias enzimáticas en la vía metabólica para destruir las bacterias ingeridas por la célula fagocítica. Entre los trastornos intrínsecos de la fagocitosis se encuentra la enfermedad granulomatosa crónica, una enfermedad hereditaria ligada al cromosoma X en la que hay una deficiencia de mieloperoxidasa y la enzima oxidasa dependiente de la nicotinamida adenina dinucleótidoperoxidasa. Las deficiencias de estos compuestos impiden la generación del superóxido de hidrógeno y el peróxido de hidrógeno necesarios para destruir bacterias. <sup>(11)</sup>

La cicatrización de heridas es problemática en personas con diabetes mellitus sobre todo las que tienen un control deficiente de la glucemia. Los estudios muestran retraso en la cicatrización de heridas, formación deficiente de colágeno y fuerza de tensión insuficiente en animales diabéticos. Un factor de especial importancia es el efecto de la hiperglucemia en la función fagocítica. Por ejemplo, los neutrófilos muestran menos función quimiotáctica y fagocítica, con alteración del englobamiento y destrucción de bacterias, cuando se exponen a concentraciones anormales de bacterias, cuando se exponen a concentraciones anormales de glucosa. La afectación de los pequeños vasos sanguíneos también es frecuente entre los diabéticos, lo que altera la llegada de células inflamatorias, oxígeno y nutrientes a la lesión. <sup>(11)</sup>

La administración terapéutica de corticosteroides disminuye el proceso inflamatorio y puede retrasar el proceso de cicatrización. Estas hormonas atenúan la permeabilidad capilar durante las etapas iniciales de la inflamación, afectan a la

propiedad fagocítica de los leucocitos e inhiben la proliferación y función de fibroblastos. <sup>(11)</sup>

#### **1.6.3.4 Infección, dehiscencia de herida y cuerpos extraños**

La contaminación de la lesión, dehiscencia de la herida y cuerpos extraños retrasan la cicatrización. La infección afecta a todo el proceso de cicatrización. Prolonga la fase inflamatoria, altera la formación del tejido de granulación e inhibe la proliferación de fibroblastos y el depósito de fibras de colágeno. Todas las heridas están contaminadas en el momento de producirse la lesión. Aunque las defensas del cuerpo pueden controlar la invasión de microorganismos en ese momento, las heridas muy contaminadas pueden rebasar las defensas del hospedador. El traumatismo y la alteración preexistente de las defensas del hospedador también contribuyen al desarrollo de infecciones en la herida. <sup>(11)</sup>

La aproximación de los bordes de la herida (es decir, sutura de una herida tipo incisión) acelera en gran medida la cicatrización y previenen la infección. La epitelización de una herida con los bordes bien aproximados se completa en 1 o 2 días. Las heridas grandes y separadas tienden a cicatrizar con más lentitud porque a menudo es imposible cerrarlas. Los factores mecánicos, como la elevación de la presión local o la torsión pueden hacer que las heridas se separen o sufran dehiscencia. Los cuerpos extraños tienden a atraer contaminación bacteriana retrasan la cicatrización. Es posible que penetren fragmentos de madera, acero, vidrio y otros compuestos en el momento de producirse la lesión y sean difíciles de localizar cuando se trata la herida. Las suturas también son cuerpos extraños y, si bien son necesarias para cerrar las heridas quirúrgicas, son un impedimento para la cicatrización. Esta es la razón por lo cual las suturas se retiran lo más pronto posible después de la operación. Las infecciones de la herida implican un problema particular en personas en las que se implantan cuerpos extraños, como dispositivos ortopédicos (p.ej., clavos, dispositivos para estabilización), marcapasos cardiacos y catéteres de derivación. Estas infecciones son difíciles de tratar y algunas veces es necesario retirar el dispositivo. <sup>(11)</sup>

## 1.7. GELES

La Real Farmacopea Española define los geles como formas farmacéuticas semisólidas formadas por líquidos gelificados con ayuda de un agente gelificante. Son, habitualmente, de aplicación tópica pudiendo ser más o menos consistentes según la cantidad de agente gelificante que se empleé. <sup>(17,53)</sup>

Los geles son sistemas coloidales transparentes de dos componentes que presentan una estructura continua que les confiere características propias de los semisólidos. Este sistema contiene gran proporción de líquido, que gelifica por la adición de sustancias llamadas gelificantes, que pueden incorporarse disueltas o no. Los geles presentan la ventaja de que son bien tolerados, son refrescantes y fácilmente lavables. Los inconvenientes derivan del hecho de su incompatibilidad con muchos principios activos y de su tendencia a la desecación. <sup>(17,53)</sup>

### 1.7.1. Tipos de geles

#### 1.7.1.1 Dependiendo de su composición frente al agua.

Existen varios tipos de geles, pudiéndose realizar varias clasificaciones atendiendo a diversos criterios. En función de su comportamiento frente al agua existen dos tipos: geles hidrófobos o lipogeles y geles hidrófilos o hidrogeles.

Estas preparaciones contienen líquidos hidrófobos o hidrófilos que han gelificado por acción de un gelificante. El gelificante, en el caso de los geles hidrófobos, puede ser polietileno, sílice coloidal o algunos jabones. En el caso de geles hidrófilos los gelificantes pueden ser derivados de celulosa, gomas, poliacrilamidas, derivados de almidón, silicatos de magnesio y aluminio, etc. <sup>(17,53)</sup>

#### 1.7.1.1.1 Lipogeles

Son geles que se utilizan para tratar dermatitis crónicas por ser emolientes y lubricantes y aunque, siendo farmacológicamente inertes incluso, pueden originar reacciones alérgicas. Su consistencia permite mayor tiempo de contacto con la zona de aplicación, hecho especialmente relevante en la formulación de preparados oftálmicos, al aumentar el tiempo de permanencia de estos en la

superficie del ojo. Su inercia química los hace aptos para la formulación de preparados de principios activos inestables. <sup>(17,53)</sup>

#### **1.7.1.1.2 Hidrogeles**

Los hidrogeles están formulados a base de agua, que constituye el componente mayoritario y es la responsable de la solubilización de los principios activos hidrosolubles, glicerol, propilenglicol u otros líquidos hidrófilos a los que se añade el agente gelificante correspondiente. <sup>(17,53)</sup>

#### **1.7.2. Según el número de fases en que están constituidos**

Geles monofásicos: el medio líquido lo constituye una sola fase o líquidos miscibles; agua-alcohol, solución hidroalcohólica, aceite, etc.

Geles bifásicos: constituidos por dos fases líquidas inmiscibles, formando una estructura transparente con propiedades de semisólido. <sup>(53)</sup>

#### **1.7.3. Clasificación de los geles por su viscosidad**

Geles fluidos, Geles semisólidos, Geles sólidos <sup>(53)</sup>

#### **1.7.4. Clasificación de los geles por su estructura**

Elásticos: Un gel típico elástico es el de gelatina, se obtiene por enfriamiento del sol liófilo que resulta cuando se calienta esta sustancia con agua. Otros soles dan geles elásticos, por ejemplo: agar, almidón, pectina, siempre que no sean demasiado diluidos. El gel elástico por hidratación se regenera.

No elásticos: El gel no elástico más conocido es el del ácido silícico o gel de sílice. Se obtiene mezclando soluciones de silicato de sodio con ácido clorhídrico en concentraciones apropiadas. Un gel no elástico (sílice) se hace vítreo o se pulveriza y pierde su elasticidad por secado. Los geles no elásticos no tienen imbibición o hinchamiento, pueden tomar líquido sin cambio de volumen. <sup>(53)</sup>

## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. CAMPO DE INVESTIGACIÓN

##### 2.1.1.Ámbito geográfico

La parte experimental del presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios del pabellón H (primer piso) y el Bioterio ubicados en la Universidad Católica de Santa María, de la ciudad de Arequipa – Perú.

##### 2.1.2.Unidades de estudio

###### 2.1.2.1 Unidad vegetal

Las unidades vegetales de estudio para realizar el presente trabajo de investigación fueron recolectadas en la localidad de Majes.

- Hojas de *Bidens pilosa* (amor seco).
- Hojas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil)

###### 2.1.2.2 Unidad biológica

Animales de laboratorio conformado por ratas hembras entre la edad de 5 a 6 meses, pertenecientes a la especie *Rattus norvegicus*.

### 2.1.3. Tipo de estudio y diseño de la investigación

El presente estudio corresponde al tipo experimental. El diseño para la presente investigación pertenece a aquellos que tienen grupo control y post prueba. Las unidades experimentales fueron seleccionadas al azar y se conformaron grupos aleatorios tanto para la prueba piloto y para la prueba final.

## 2.2. MATERIALES

### 2.2.1. Material de vidrio

- Baguetas ( Boeco)
- Matraz Erlenmeyer de 100 ml (PIREX)
- Perlas de vidrio
- Pipetas graduadas de 1ml, 2ml,5ml,10ml. (PIREX)
- Probetas de 100ml (PIREX)
- Vasos de precipitados 100 y 250ml (BOECO)

### 2.2.2. Equipos

- Balanza analítica: (Modelo A-160 Denver Instrument Company).
- Balanza granataria con canastilla
- Cocina eléctrica
- Equipo Rotavapor BUCHI
- Percolador (Elaboración propia)
- Equipo tensiómetro (Elaboración UCSM)
- Estufa de desecación Memmert SCHUTZART DIN 40050-IP20
- Lámpara de luz UV: (CAMAG UV 254-366 nm)
- Mechero Bunsen
- Vernier

### 2.2.3. Reactivos

- Acetato de etilo MALLINCKRODT
- Ácido acético MERCK
- Ácido sulfúrico concentrado 95-98% Merck
- Agua destilada (Delta)
- Etanol químicamente puro JTBAKER
- Carbopol 940 USP (Delta)
- Cloruro de aluminio MERCK
- Cloruro férrico MERCK
- Cloroformo MERCK
- Metilparabeno (Delta)
- Propilenglicol USP ( Delta)
- Propilparabeno (Delta)
- Tolueno químicamente puro Merck
- Trietanolamina USP ( Delta)
- Vainillina

### 2.2.4. Otros

- Afeitador
- Aguja de sutura
- Alcohol yodado
- Algodón
- Bisturí #15
- Envases cremeros de plástico
- Espátulas de 10 cm
- Frascos de vidrio oscuros

- Guantes quirúrgicos talla 7
- Jeringa de tuberculina
- Mascarilla y gorro de laboratorio descartables
- Papel filtro ( Delta)
- Plumón marcador indeleble
- Seda negra 3/0
- Vasos descartables 150ml

### **2.3. PRODUCTO FARMACEUTICO**

#### **2.3.1. Gel cicatrizante**

##### **2.3.1.1 Nombre comercial**

CICATRICURE®Regenext IV® Complex

##### **2.3.1.2 Distribución de las unidades biológicas**

###### **2.3.1.2.1 Prueba piloto**

La prueba piloto es una evaluación previa realizada con el fin de determinar la concentración final del extracto en gel, tanto para las hojas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil), *Bidens pilosa* (amor seco) y la asociación de estas. La distribución fue del siguiente modo:

- Piloto 1: Grupo conformado por 3 heridas incisas de primera intención a las que se les aplicó gel con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 20%
- Piloto 2: Grupo conformado por 3 heridas incisas de primera intención a las que se les aplicó gel con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30%
- Piloto 3: Grupo conformado por 3 heridas incisas de primera intención a las que se les aplicó gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20%

- Piloto 4: Grupo conformado por 3 heridas incisas de primera intención a las que se les aplicó gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 30%
- Piloto 5: Grupo conformado por 3 heridas incisas de primera intención a las que no se les aplicó ningún tratamiento.
- 

#### 2.3.1.2.2 Prueba Final

Mediante la prueba final fue evaluado el gel con extracto que tras la prueba piloto tuvo mayor eficacia preliminar, esta prueba además del grupo control evaluó los extractos en gel en presencia de una especialidad farmacéutica con acción cicatrizante. Para la prueba final también se conformaron grupos de forma aleatoria y con mayor número de heridas incisas.

- Final 1: Grupo conformado por 6 heridas incisas de primera intención a las que se les aplicó gel con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30%
- Final 2: Grupo conformado por 6 heridas incisas de primera intención a las que se les aplicó gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20%
- Final 3: Grupo conformado por 6 heridas incisas de primera intención a las que se les aplicó gel con la asociación de extractos (*Lippia nodiflora* (tikil tikil) y *Bidens pilosa* (amor seco) al 30%
- Final 4: Grupo conformado por 6 heridas incisas de primera intención a las que se les aplicó una especialidad farmacéutica cicatrizante en gel (CICATRICURE®)
- Final 5: Grupo conformado por 6 heridas incisas de primera intención a las que no se les aplicó ningún tratamiento.

## 2.4. METODOLOGIA

### 2.4.1. Preparación del material vegetal

#### 2.4.1.1 Recolección de la planta medicinal

Para la obtención y posterior evaluación cicatrizante de las drogas, se procedió a la recolección de estas plantas, dirigiéndose a la localidad de Majes. Se recolectaron ejemplares maduros en etapa de floración.



**Figura N°5: Recolección de *Bidens pilosa* (amor seco) en la localidad de Majes**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### 2.4.1.2 Selección

Una vez recolectado el material vegetal, se escogieron las hojas verdes y en buen estado de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y las de *Bidens pilosa* (amor seco), dejando de lado las que presentaban rupturas, manchas y material vegetal extraño.



**Figura N°6: Hojas seleccionadas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil)**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 2.4.1.3 Estabilización

Tanto las hojas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y las de *Bidens pilosa* (amor seco) fueron estabilizadas a una temperatura de 95°C durante 3 minutos en la estufa de desecación. Este proceso permite proseguir con la desecación sin afectar la estabilidad de los metabolitos secundarios debido a un ataque enzimático.<sup>(50)</sup>



**Figura N°7: Estabilización de los materiales vegetales en estufa de desecación (Memmert)**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 2.4.1.4 Dsecación

Las hojas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) fueron desecadas a una temperatura de 60°C durante 4 horas y media; las hojas de *Bidens pilosa* (amor seco) fueron desecadas a una temperatura de 50°C durante 4 horas. Se consideró como drogas secas a las que luego de tres pesadas presentaron un peso constante en intervalos de 15 minutos.



**Figura N°8: Hojas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) que presentan pesos constantes después de su desecación.**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### 2.4.1.5 Trituración

Para la trituración de los materiales vegetales de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y *Bidens pilosa* (amor seco). Las hojas ya desecadas se colocaron sobre el mortero de porcelana poco a poco y se trituraron hasta la obtención de un tamaño de partícula adecuado para los procesos extractivos.



**Figura N°9: *Bidens pilosa* (amor seco) desecada para su trituración manual.**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### 2.4.2. Obtención de los extractos

##### 2.4.2.1 Método de Percolación

###### **Fundamento**

La percolación consiste en hacer pasar el solvente a través de la droga, hasta su extracción exhaustiva completa. La percolación simple, comprende la extracción exhaustiva del material vegetal con el solvente. En pequeña escala, la percolación se realiza en aparatos denominados percoladores, de cuerpo cilíndrico o cónico, provistos de un grifo en la parte inferior, para regular el flujo del solvente. Según la farmacopea Alemana, la capacidad de la droga debe ser igual a 5 veces el diámetro medio del equipo.

La percolación, en pequeña escala o en escala industrial, comprende una etapa preliminar de humedecimiento de la droga, fuera del cuerpo del percolador. Este procedimiento tiene como objetivo aumentar el contacto, facilitando el paso del disolvente y no permitiendo la formación de falsas vías, que perjudican la eficiencia del proceso. El humedecimiento de la droga aumenta la porosidad de la pared celular

y facilita la difusión de las sustancias extraíbles hacia el exterior de las células. El humedecimiento debe ser realizado fuera del percolador, ya que la droga puede hincharse excesivamente, principalmente cuando el solvente es acuoso, y comprimirse contra las paredes del percolador, no permitiendo el paso del solvente.

### Modo operatorio

En primer Lugar se elaboró el equipo percolador, se cortó la base de las botellas, a estas le colocamos torundas de algodón en el pico de las botellas, usando como llave de drenaje el equipo de venoclisis, luego se pesaron 30 gramos de los materiales vegetales triturados, se humectaron con el disolvente, para luego ser depositados en los percoladores. Se colocó en el depósito del disolvente alcohol etílico 300ml. Se abrió la llave superior y se soltó cantidad suficiente de solvente hasta llegar a un centímetro por encima del material vegetal, Luego se inició el proceso de percolación con una velocidad de goteo mediante equipo de venoclisis de 30 gotas por minuto aproximadamente, este extracto fue recibido en un frasco de vidrio de color ámbar. El primer percolado de 300ml fue separado, el segundo fue repercolado dos veces y así sucesivamente hasta la clarificación de las gotas del percolador. <sup>(44)</sup>



**Figura N°10: Procedimiento de extracción de *Bidens pilosa* (amor seco) mediante el equipo percolador**



**Figura N°11: Procedimiento de extracción de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) mediante el equipo percolador**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 2.4.3. Método de concentración de extractos

#### 2.4.3.1 Al vacío

##### Fundamento

Este método es la evaporación y la condensación de disolventes utilizando un matraz evaporador rotativo bajo vacío. El vacío también elimina emisiones de vapores no deseadas o peligrosas durante el proceso y es un importante elemento de seguridad. La presión baja disminuye el punto de ebullición del medio dentro del Rotavapor., esto permite tratar el producto con delicadeza. <sup>(28)</sup>

##### Modo operatorio

En primer lugar se abrió la llave del agua verificando que esta circule correctamente en el espiral del refrigerante, después se encendió el rotavapor, para precalentar a la temperatura necesaria el baño termostático. La temperatura se ajustó, y en el balón se colocó el extracto de hojas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) obtenido por el método de percolación, sujetándolo con las pinzas este se sumerge girando en el baño termostático para poner a girar la muestra con el control de rotación, una vez ya concentrada la muestra, se procedió a desmontar el balón del sistema, de la misma forma se procedió con el extracto de hojas de *Bidens pilosa* (amor seco)



**Figura N°12: Concentración al vacío de los extractos de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y la de *Bidens pilosa* (amor seco) mediante el equipo de Rotavapor**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### 2.4.4. Determinación del rendimiento de las extracciones

##### Método

Gravimétrico

##### Fundamento

El porcentaje de rendimiento de extracción (%RE) o el porcentaje de sólidos solubles, se fundamenta en determinar la diferencia de peso del extracto obtenido, entre el peso del material vegetal inicial por el 100%. Conforme a la siguiente ecuación:

##### Cálculos

$$\%RE = \frac{\text{peso del soluto}}{\text{peso del material vegetal}} \times 100$$

##### Modo operatorio

Inmediatamente concluida cada extracción por el método de percolación, con sus respectivas condiciones de operación y la concentración en el Rotavapor hasta la obtención de un soluto se determinó su rendimiento realizando los cálculos porcentuales basados en la diferencia de peso.

#### 2.4.5. Cromatografía en capa fina (CCF)

##### Fundamento

La cromatografía tiene la capacidad de separar un extracto total por afinidad diferencial de los diversos componentes, en la fase estacionaria y la fase móvil. Es decir que todo extracto crudo que inicia su recorrido disuelto en la fase móvil, a medida que atraviesa la fase estacionaria se va fraccionando porque sus componentes tienen diferentes afinidades por las moléculas de dicha fase.<sup>(50)</sup>

### Modo operatorio

Se seleccionó la fase estacionaria, la fase móvil. La fase estacionaria empleada consistió en cromatofolios de sílica gel con base de aluminio. Cortadas en un tamaño de 10 x 2 cm, se trazó una línea a 1 cm del borde; al que se le aplicó la muestra a analizar, esta fue aplicada sobre la línea en banda con capilares. Luego se colocaron en una cámara que se preparó 30 minutos antes para obtener una buena saturación del medio, se utilizó 5 ml de la fase móvil, se desarrolló el cromatograma hasta que la fase móvil llegó a 1 cm del extremo superior de la placa, para luego retirarla y dejarlas secar durante 20 minutos, finalmente la placa después de seca, es rociada con los reveladores hasta cubrir la placa.

### Determinación Del Factor Rf

Es un número que permite identificar sustancias considerando las distancias recorridas en un cromatograma y con un método cromatográfico dado. Cada sustancia tiene un RF único y específico, por medio del que se le puede identificar.

### Cálculos

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

### 2.4.6. Fases móviles

Las fases móviles utilizadas fueron las siguientes:

**Tabla N°1: Sistema de disolventes utilizados en cromatografía en capa fina**

Metabolito	Disolvente			
<b>Terpenos</b>	Tolueno (95)	Acetato de etilo (5)	--	--
<b>Taninos</b>	Acetato de etilo (95)	Metanol (5)	--	--
<b>Flavonoides</b>	Acetato de etilo (100)	Acido acético (11)	Ácido fórmico (11)	Agua (26)
<b>Alcaloides</b>	Cloroformo (8)	Acetato de etilo (2)	--	--

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### 2.4.7.Reveladores

Los reveladores utilizados así como las coloraciones características de las coloraciones que debieron presentar fueron las siguientes:

**Tabla N°2: Sistema de reveladores para la cromatografía en capa fina**

<b>Metabolito</b>	<b>Revelador</b>	<b>Color de mancha</b>
<b>Terpenos</b>	Reactivo de Liebermann Burchard	Verde
<b>Taninos</b>	Reactivo de cloruro férrico	Verde a marrón oscuro
<b>Flavonoides</b>	Reactivo de cloruro de aluminio	Fluorescencia amarilla bajo luz UV 366nm
<b>Alcaloides</b>	Reactivo de Dragendorff	Anaranjado-rojo

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### 2.4.8.Formulación y preparación de la forma farmacéutica.

Para la elaboración de los geles con extractos, en primer orden se procedió con la obtención del extracto, para ello se utilizó como disolvente alcohol etílico, el método elegido fue la percolación. Luego de obtener la solución extractiva se procedió a su concentración con la finalidad de aumentar la concentración del extracto. Este extracto obtenido sirvió no solo para la obtención de los geles con extractos sino también para efectos de la cromatografía en capa fina vista en el apartado anterior.

Para la obtención de los geles se partió de un gel tipo hidrogel que utiliza como agente gelificante al polímero orgánico denominado carbopol, a propósito de este excipiente la literatura señala que debe ser utilizado en un rango del 1 al 5%, y que para la elaboración de hidrogeles en un rango del 1 al 2%, por lo que se procedió a la obtención de geles con una concentración ascendente de carbopol del 1%, 1.3%, 1.7% y 2%. En todas estas concentraciones se añadió cantidad suficiente de trietanolamina para un pH final del preparado de 7, tanto los parabenos, el sorbitol y el extracto mantuvieron las cantidades. Finalmente y por el aspecto de la formulación final se eligió al gel que presentaba una concentración del 1.3%, la concentración del 1% dio como resultado un gel un tanto fluido o “suelto” por el contrario la

concentración del 1.7% y 2% a pH dio como resultado geles muy consistentes o “duros”. La descripción de la formulación final al 1.3% se presenta a continuación:

**Tabla N°3: Formulación del gel de carbopol al 1.3% con extractos de drogas al 20% y 30%**

COMPONENTES	CANTIDADES	
	Gel con extracto al 20%	Gel con extracto al 30%
<b>EXTRACTO DE DROGA (S)</b>	20%	30%
<b>CARBOPOL</b>	1.3%	1.3%
<b>METILPARABENO</b>	0.08%	0.08%
<b>PROPILPARABENO</b>	0.02%	0.02%
<b>SORBITOL</b>	5%	5%
<b>AGUA DESTILADA C.S.P.</b>	100 %	100 %
<b>TRITANOLAMINA c.s.p. pH 6.5-7</b>		

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### **Modo operatorio**

Para la elaboración de este gel se realizó el siguiente procedimiento:

Se reunió los materiales para la elaboración del gel. Luego se pesó las cantidades de cada material. Posteriormente el agua destilada se disolvió el sorbitol luego el metilparabeno y el propilparabeno mediante agitación constante. Posteriormente se añadió el carbopol y se disolvió mediante agitación constante.

Luego se adicionó gota a gota la trietanolamina hasta alcanzar el pH indicado, cuando se formó el gel se añadió el extracto hasta que se mezcle en forma homogénea obteniendo un gel con color y olor característico, se envaso y rotuló el producto final.

## 2.4.9. Determinación del efecto cicatrizante

### 2.4.9.1 Acondicionamiento de los animales de experimentación.

Todos los animales de experimentación fueron sometidos a un periodo previo de selección y acondicionamiento en condiciones similares, con la finalidad de reducir la variabilidad biológica. Se consideraron las siguientes condiciones:

Animales hembras con pesos corporales comprendidos entre 200 y 250 gramos, edad entre 5 y 6 meses (jóvenes), animales sin enfermedad alguna, con Dieta balanceada y agua a disposición., animales en cautiverio en jaulas con los mismos periodos de noche y luz natural.

### 2.4.9.2 Selección aleatoria

En cada animal se planteó practicar dos heridas incisas, por lo que para ello se enumeró en primer lugar a todos los animales, las heridas fueron sorteadas al azar para conformar los distintos grupos de tratamiento. Una vez realizado ello se procedió con efectuar cada herida al animal su identificación y su asignación del tratamiento de la herida conforme la selección aleatoria realizada. (Ver anexo Tablas N°1 y N°2).

**Tabla N°4: Grupo de tratamiento y cantidad de heridas para la prueba piloto**

Grupo de tratamiento	Heridas
Gel con <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) 20%	3
Gel con <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) 30%	3
Gel con <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil) 20%	3
Gel con <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil) 30%	3
Control	3

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

**Tabla N°5: Grupo de tratamiento y cantidad de heridas para la prueba final**

Grupo de tratamiento	Heridas
<b>Control</b>	6
<b>Cicatricure</b>	6
<b>Gel con <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil) 30%</b>	6
<b>Gel con <i>Bidens pilosa</i> (amor seco) 20%</b>	6
<b>Gel asociación de extractos 30%</b>	6

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 2.4.9.3 Depilación

Después del periodo previo de selección y acondicionamiento en condiciones similares a los animales de experimentación, se procedió a rasurarlos con una máquina de afeitar eléctrica en un área de 3.5 x 5 cm con la finalidad de no contaminar las heridas incisas con el pelaje, y también la evidencia de la cicatriz. Luego se procede con la asepsia de la superficie de la piel



**Figura N°13: Rata depilada con máquina de afeitar eléctrica en un área de 3.5 x 5 cm**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### 2.4.9.4 Incisión

Para la incisión se delimitó usando un plumón marcador dos puntos equidistantes de 1cm de longitud, la distancia entre herida y herida fue de 2cm estos medidos con un vernier por la practicidad. Posteriormente se aplica un anestésico general Pentobarbital sódico por vía subcutánea, se colocó al animal sobre la mesa de trabajo cuando el animal se encuentra en completo reposo se practica la incisión levantando la piel e introduciendo el bisturí a una profundidad de 5 mm procurando en todo momento que el corte comprometa solo la piel y seguidamente (cicatriz de primera intención), se unieron los bordes con un punto de sutura con seda negra en la parte central del corte. Esta etapa se realizó cumpliendo condiciones de asepsia para finalmente colocar al animal en la jaula.



**Figura N°14: Inducción de la herida a las ratas hembras *Rattus norvegicus***

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### 2.4.9.5 Administración de los tratamientos

Posterior a la incisión se administró el tratamiento de forma tópica con ayuda de un hisopo hasta cubrir la herida, tomando el gel respectivo con jeringa de tuberculina para que la aplicación sea similar para todas las heridas, el tratamiento fue aplicado tres veces al día en todos los casos, luego de siete días de administrados los tratamientos se procedió a medir la fuerza de la cicatriz.



**Figura N°15: Aplicación de los tratamientos  
en las heridas**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### **2.4.9.6 Procedimiento tensiométrico**

##### **Fundamento**

Modelo de referencia de Howes. Consiste en la adición de fuerza mecánica de tensión sobre una herida incisa de primera intención de 1cm de longitud practicada en el lomo del animal. La fuerza de la cicatriz está directamente relacionada con la fuerza mecánica de resistencia a la rotura con la adición de gramos de arena con tal fin. A mayor resistencia mayor gramaje de arena y viceversa. <sup>(29)</sup>

##### **Modo operatorio.**

Para la medición de la resistencia mecánica de la cicatriz fue también necesario anestesiarse de modo tal que en estado de reposo permita colocar dos puntos a cada lado de la cicatriz con la finalidad de tirar de cada punto, en uno de ellos se colocó un recipiente tarado, en el que se añadía poco a poco partículas de arena, hasta que la cicatriz se aperture en su totalidad. Posteriormente se pesa el recipiente junto con la arena y por diferencia se obtiene la cantidad de arena equivalente a la resistencia de la herida. Finalmente el animal es vuelto a suturar, realizándose asepsia de la herida.



**Figura N°16: Tensiómetro para realizar la resistencia mecánica de la cicatriz.**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

#### 2.4.10. Medidas estadísticas

##### 2.4.10.1 Medidas de tendencia central

Para reducir todos los datos numéricos a unos cuantos y ver el grado de dispersión de los datos provenientes de la muestra, se calculará el promedio, la mediana y la desviación estándar de los gramos de arena que ofrecen como resistencia cada cicatriz.

##### 2.4.10.2 Estadísticas para la comparación de medias

#### ANOVA

El análisis de varianza sirve para comparar varias medias, y a diferencia de la prueba T, el ANOVA, es utilizado para comparar varios grupos a la vez, y ver si existen diferencias significativas entre ellos.

Si al realizar la prueba se obtiene una significancia (probabilidad) baja, es decir, menor a 0.05 se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos no difieren entre sí y se acepta la hipótesis estadística de investigación que supone que los grupos difieren entre sí (Hipótesis alternativa)

### Prueba de Tukey

Es un procedimiento estadístico que permite la comparación pareada de todos los pares de medias, se le simboliza como HSD del inglés, honestly significant difference.



## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. TRATAMIENTO Y OBTENCION DE LOS EXTRACTOS

Para la obtención de los extractos recolectados se estabilizó y desecó en la estufa, se procedió a la extracción con etanol 96% como disolvente mediante el método de percolación, al término de la extracción se obtuvo 1500 mL. de extracto de hojas de *Bidens pilosa* (amor seco) limpio y verde oscuro con olor característico de la planta., mientras en la extracción de hojas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) se obtuvo 1200 mL. de color verde con olor característico. En la Tabla N°6 se debe indicar que los parámetros organolépticos de los extractos no tienen estándares de referencia con los cuales se los puede comparar, ya que estos extractos tienen sus propias características dependiendo de cada especie.

**Tabla N°6: Características de los extractos con etanol 96% de hojas de *Bidens pilosa* (amor seco) y hojas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil)**

Descripcion	Extracto de hojas de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco)	Extracto de hojas de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil)
Color:	Verde oscuro	Verde
Olor:	Característico de <i>Bidens pilosa</i> (amor seco)	Característico de <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil)
Aspecto	Limpido	Limpido

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 3.2. DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS.

Para la determinación del porcentaje de rendimiento se pesó 30gramos de hojas desecadas y trituradas de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y *Bidens pilosa* (amor seco) para cada extracción por el método de percolación, con sus respectivas condiciones de operación y posteriormente la extracción del solvente con el equipo de rotavapor hasta la obtención de un extracto seco, en las Tablas N° 7 y 8 se observa los resultados de porcentaje de rendimiento. Los cálculos porcentuales fueron basados en la diferencia de pesos teniendo de la obtención del extracto de la planta *Lippia nodiflora* (tikil tikil) por el método de percolación un rendimiento de 13%, con respecto a la obtención del extracto de la planta *Bidens pilosa* (amor seco) alcanzó mayor porcentaje de rendimiento 15.6 %.

**Tabla N°7: Porcentaje de rendimiento de los extractos de la planta *Lippia nodiflora* (tikil tikil)**

<b>Solvente</b>	<b>Peso de la muestra en gramos</b>	<b>Peso de extracto seco en gramos</b>	<b>% de rendimiento</b>
<b>Etanol 96%</b>	<b>30</b>	<b>3.9</b>	<b>13</b>

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

**Tabla N°8: Porcentaje de rendimiento de los extractos de la planta *Bidens pilosa* (amor seco)**

<b>Solvente</b>	<b>Peso de la muestra en gramos</b>	<b>Peso de extracto seco en gramos</b>	<b>% de rendimiento</b>
<b>Etanol 96%</b>	<b>30</b>	<b>4.7</b>	<b>15.6</b>

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

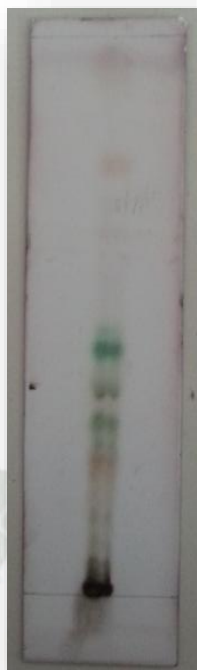
### 3.3. DETERMINACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS.

Para la realización de la cromatografía en capa fina, se utilizaron como fase estacionaria placas de silica gel G-60. Se procedió conforme la metodología descrita en el capítulo anterior, trabajándose para la detección de terpenos, flavonoides, taninos y alcaloides. Esta detección fue realizada para ambos extractos, esto es, tanto para el extracto etanólico de *Bidens pilosa* (amor seco) y para el extracto etanólico de *Lippia nodiflora* (tikil tikil).

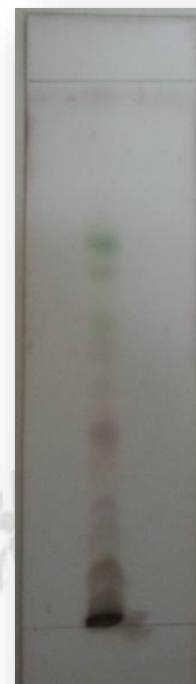
#### Determinación de terpenos

En este análisis cualitativo las Figuras N° 17 y 18 muestran los resultados del extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* (amor seco) y extracto etanólico de hojas *Lippia nodiflora* (tikil tikil) obtenidas por el método de percolación. Los elementos usados para la cromatografía: Fase estacionaria silica gel G-60 y Fase móvil: tolueno-acetato de etilo (95:5), la detección de terpenos se hizo con el revelador: reactivo de Liebermann Burchardse puede evidenciar que dan una coloración verde. Dando como: Rf aproximado: 0.5 para la placa cromatográfica de *Bidens pilosa* (amor seco) y un Rf aproximado: 0.71 para la placa cromatográfica de *Lippia nodiflora* (tikil tikil). Esto fue corroborado conforme la técnica según la bibliografía revisada. Villar del Fresno A. (Editor): FARMACOGNOSIA GENERAL. 1ª Edición 2000. Editorial Síntesis S.A. <sup>(54)</sup>.

En la tesis: “efecto Antibacteriano in vitro del extracto de *Bidens pilosa* L.VAR MINOR (amor seco) frente a cepas, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus* y *Echerichiacoli*” menciona que para la determinación de terpenos se desarrolló coloración verde sugiriendo también la presencia de terpenos <sup>(55)</sup>



**Figura N°17: Placa cromatográfica de resultado de *Bidens pilosa* (amor seco)**

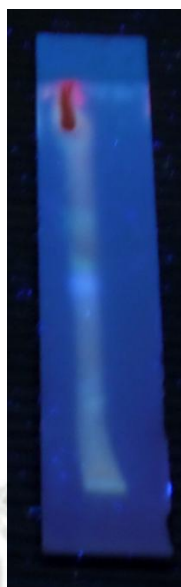


**Figura N°18: Placa cromatográfica de resultado de *Lippia nodiflora* (tikil tikil)**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### **Determinación de flavonoides**

Las figuras N° 19 Y 20 muestran los resultados de la detección de flavonoides en cromatografía de capa fina del extracto etanólico de *Bidens pilosa* (amor seco) y extracto etanólico de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) obtenidas por el método de percolación. En este análisis cualitativo se utilizó como Fase estacionaria: sílica gel 60 y Fase móvil: acetato de etilo-ácido acético-ácido fórmico-agua (100:11:11:26), se puede evidenciar la detección de flavonoides con el revelador que estuvo constituido por el reactivo de cloruro de aluminio. Conforme la técnica las figuras nos muestran bajo la luz UV 366nm manchas con fluorescencia amarilla correspondiente para compuestos tipo flavonoides calculándose el valor Rf aproximado: 0.64 para la placa cromatográfica de *Bidens pilosa* (amor seco) y el Rf aproximado: 0.63 para la placa cromatográfica de *Lippia nodiflora* (tikil tikil). Tomando en cuenta la cromatografía realizada en la tesis: Determinar el efecto de *Bidens pilosa* (PIRCA) sobre la diuresis, con respecto a *Bidens pilosa* (amor seco) mencionan positivo para flavonoides, por lo cual se corroboró los resultados.<sup>(18)</sup>



**Figura N°19: Placa cromatográfica** **Figura N°20: Placa cromatográfica**  
**Resultado con el extracto de** **Resultado con el extracto de**  
***Bidens pilosa* (amor seco)** ***Lippia***  
***nodiflora* (tikil tikil)**

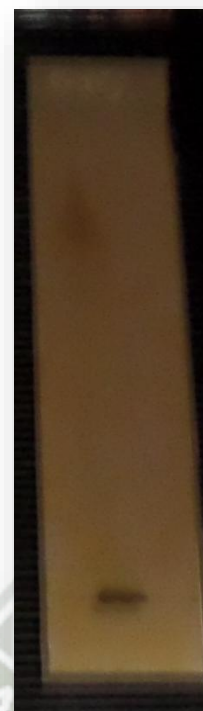
FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### Determinación de taninos

Fase móvil: acetato de etilo y metanol (95-.5), Fase estacionaria: sílica gel el revelador estuvo constituido por el reactivo de cloruro férrico conforme la técnica las Figuras N°21 y 22 bajo la luz UV 366nm nos muestran para ambos extractos verdes a marrón correspondientes a este tipo de metabolitos secundarios, como: Rf aproximado: 0.13 para la placa cromatográfica de *Bidens pilosa*(amor seco) y un Rf aproximado: 0.78 para la placa cromatográfica de *Lippia nodiflora* (tikil tikil). Al comparar los resultados con respecto a *Bidens pilosa*(amor seco) se encontró referencia bibliográfica en la determinación del efecto de *Bidens pilosa* (PIRCA) sobre la diuresis, este trabajo menciona positivo para taninos<sup>(18)</sup>, al igual que la referencia del efecto de la *Lippia subterranea* (tikil tikil) sobre lesiones de la mucosa gástrica provocadas en animales de experimentación<sup>(47)</sup>, menciona que en el extracto de hojas y flores de *Lippia subterranea* (tikil tikil) dio positivo para taninos, atribuyéndole la eficacia cicatrizante a este metabolito secundario.



**Figura N°21: Placa cromatográfica resultado de *Bidens pilosa* (amor seco)**

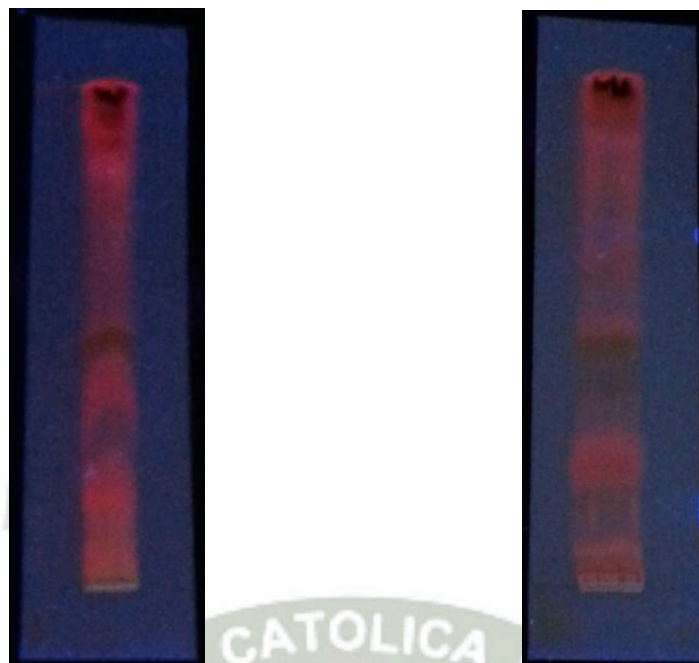


**Figura N°22: Placa cromatográfica resultado de *Lippia nodiflora* (tikil tikil)**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### Determinación de alcaloides

En este análisis cualitativo se utilizó como Fase estacionaria: silica gel; Fase móvil: cloroformo (8) y acetato de etilo (2), como revelador el reactivo de Dragendorff, en la detección UV-366nm se observó en las Figuras N°23 y 24 para ambos extractos manchas rojo-naranjas correspondiente a este tipo de compuestos y por ultimo como: Rf aproximado para la placa cromatográfica de *Bidens pilosa* (amor seco): 0.51 y un Rf aproximado para la placa cromatográfica de *Lippia nodiflora* (tikil tikil): 0.48, para este metabolito secundario no se encontraron referencias en estudios anteriores.



**Figura N°23:** Placa cromatográfica resultado de *Bidens pilosa* (amor seco) **Figura N°24:** Placa cromatográfica resultado de *Lippia nodiflora* (tikil tikil)

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 3.4. ELABORACION DE LOS GELES CON EXTRACTOS

Una vez obtenidos los extractos de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y *Bidens pilosa* (amor seco). Para la obtención de los geles se partió de un gel tipo hidrogel que utiliza como agente gelificante al polímero orgánico denominado carbopol, por el aspecto de la formulación final se eligió al gel que presentaba una concentración del 1.3%. A continuación se detallan los caracteres organolépticos del producto final en las Tablas N°8 y 9: gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) y *Lippia nodiflora* (tikil tikil) respectivamente.

**Tabla N°9: Caracteres organolépticos del gel con extracto etanólico de *Bidens pilosa* (amor seco)**

<b>Organolepsia:</b>	<b>Descripción:</b>
Color:	Verde oscuro
Olor:	Característico y predominante <i>Bidens pilosa</i> (amor seco)
Aspecto:	Cristalino, límpido.
Tacto:	Uniforme, acuoso sin grumos ni cuerpos sólidos.

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

**Tabla N°10: Caracteres organolépticos del gel con extracto etanólico de *Lippia nodiflora* (tikil tikil)**

<b>Organolepsia:</b>	<b>Descripción:</b>
Color:	Verde
Olor:	Característico y predominante <i>Lippia nodiflora</i> (tikil tikil)
Aspecto:	Cristalino, límpido.
Tacto:	Uniforme, acuoso sin grumos ni cuerpos sólidos.

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### **3.5. EFECTO CICATRIZANTE**

#### **3.5.1. Prueba piloto**

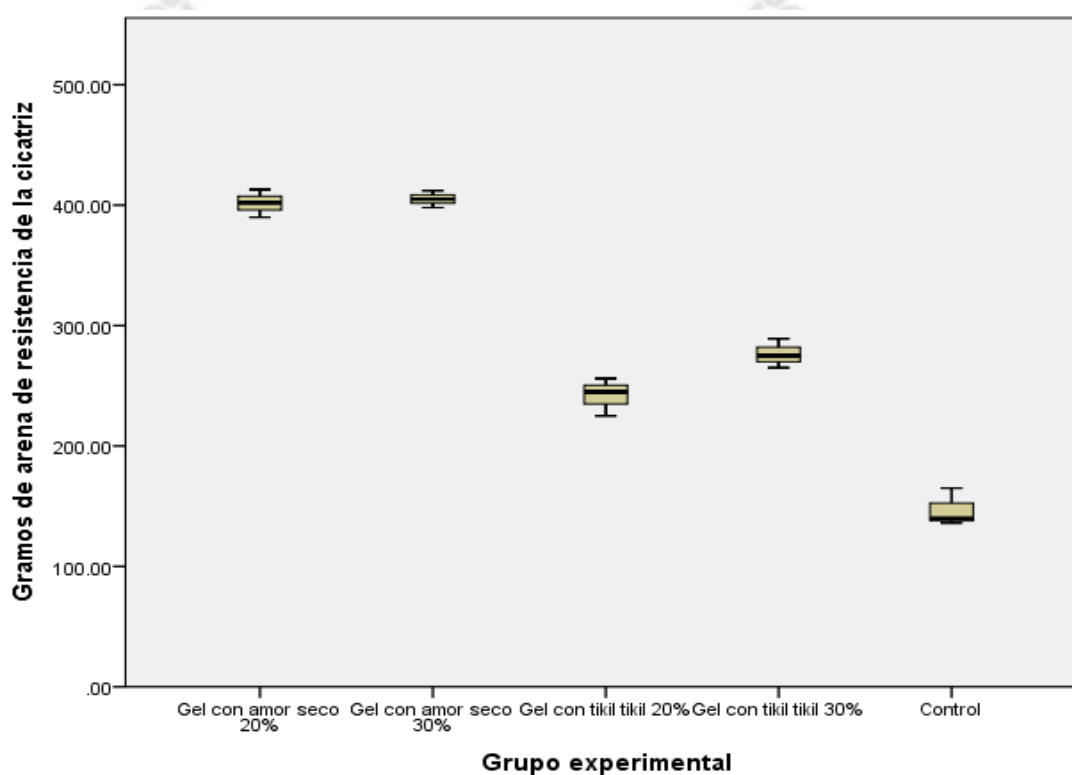
La prueba piloto se realizó en 8 animales de experimentación a los que se les practicó dos heridas incisas de primera intención, para hacer un total de 15 heridas. Esta prueba tuvo como objetivo determinar la concentración eficaz de los extractos tanto de amor seco como de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) a incorporar en la base gel estos materiales vegetales. Para ello se trabajó con dos concentraciones de 20 y 30%. Constituyendo junto al grupo control, cinco grupos de trabajo.

En la Tabla N°11 se muestra los resultados de los gramos de arena de las tres heridas incisas de los 5 grupos de trabajo. Se observa que el mayor promedio de resistencia en gramos de arena corresponde al grupo tratado como amor seco al 30% seguido con el gel de esta misma droga pero al 20%, en tercer lugar se encuentra el gel con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30%, luego el gel con extracto de esta última al 20% y finalmente el grupo control. Además se observa las desviaciones estándar correspondientes. A fin de apreciar las diferencias estadísticas existentes se realizó un test de Tukey.

**Tabla N°11: Prueba piloto, resistencia de la herida en gramos de arena**

Grupo de tratamiento	Gramos arena (N° heridas)			Promedio	D. Estandar
	1	2	3		
Gel con amor seco 20%	390.00	413.00	402.00	401.67	11.50
Gel con amor seco 30%	412.00	405.00	398.00	405.00	7.00
Gel con tikel tikel 20%	225.00	256.00	245.00	242.00	15.71
Gel con tikel tikel 30%	289.00	275.00	265.00	276.30	12.05
Control	165.00	140.00	136.00	147.00	15.61

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA



**Figura N°25: Resistencia de la herida en gramos de arena de la prueba piloto.**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En la Tabla N°12 resume los resultados para el test de Tukey aplicado a los grupos experimentales (cinco en total). Esta tabla analiza los gramos de arena de resistencia de las heridas incisas a un nivel de confianza del 0.05, muestra los subconjuntos que mantienen semejanzas y diferencias. Se aprecia que el grupo control (con el menor promedio) es diferente del gel con *Bidens pilosa* (amor seco) en ambas

concentraciones (ambas con mayor promedio), un lugar intermedio es ocupado por los geles al 20 y 30% de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) cuyos promedios tienen un valor intermedio. En este sentido diríamos que la concentración de 20% y 30% para ambas respectivamente presentan una eficacia similar entre ellas, y distinta al grupo control.

Para efecto de la prueba final debido a que el extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) presenta una eficacia cicatrizante que se ubica entre el grupo control y el grupo tratado con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20 y 30%, se decidió como concentración final a utilizar la del 30%, y para *Bidens pilosa* (amor seco) como concentración final se tomó la concentración del 20% con la finalidad de utilizar la menor cantidad pero eficaz para este extracto.

**Tabla N°12: Prueba piloto, Test de Tukey resistencia de la herida en gramos de arena**

Grupo experimental	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	3	147.00		
Gel con tikil tikil 20%	3		242.00	
Gel con tikil tikil 30%	3		276.33	
Gel con amor seco 20%	3			401.66
Gel con amor seco 30%	3			405.00
Sig.		1.00	.05	.99

Fuente: Elaboración propia

### 3.5.2. Prueba final

La prueba final fue realizada en consideración a los resultados de la prueba piloto, en este sentido se utilizaron el gel de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30% el gel de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20%, y la asociación al 30%. Los gramos de resistencia de las cicatrices presentes en los animales de experimentación fueron evaluados en presencia de un grupo control y de un grupo que fue tratado con una

especialidad farmacéutica cicatrizante CICATRICURE® expendida en establecimientos farmacéuticos locales.

Para el análisis de los resultados en primer lugar se exponen en sendos cuadros las lecturas en gramos de arena así como el promedio, mediana y desviación estándar. Luego de examinar los resultados de cada uno de los grupos, se realizó una comparación de todos los grupos con la finalidad de observar las diferencias significativas entre ellos, se determinó al grupo de mayor eficacia no solo en frente al grupo control sino además a la especialidad farmacéutica.

El grupo control en la prueba final cuyos resultados se muestran en la Tabla N° 13, muestra como promedio final un valor de 153.83 gramos, con una mediana de 159 gramos y una desviación estándar de 28.89. Estos valores constituyen de suma importancia ya que es el grupo control el que evidencia si los resultados son producto de la manipulación de nuestra variable dependiente.

**Tabla N°13: Grupo control, resistencia de la herida en gramos de arena**

Descripción de los gramos de resistencia*						
N° Heridas	1	2	3	4	5	6
Resistencia (g)	186.00	175.00	166.00	152.00	106.00	138.00
Análisis estadístico*						
Promedio	153.83					
Mediana	159.00					
Desviación estándar	28.89					

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el grupo tratado con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20% cuyos resultados se muestran en la Tabla N°14, muestra como promedio final un valor de 414.00 gramos, con una mediana de 413.50gramosy una desviación estándar de 46.74. En comparación al grupo control este grupo presentó en promedio un valor que es más de dos veces al grupo control en tanto la desviación también es mayor con referencia al control.

**Tabla N°14: Gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20% resistencia de la herida en gramos de arena**

Descripción de los gramos de resistencia*						
N° Heridas	1	2	3	4	5	6
Resistencia (g)	457	432	380	350	470	395
Análisis estadístico*						
Promedio	414.00					
Mediana	413.50					
Desviación estándar	46.74					

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el grupo tratado con gel con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30% cuyos resultados se muestran en la Tabla N° 15, muestra como promedio final un valor de 261.17 gramos, con una mediana de 263.0 gramos y una desviación estándar de 30.06. En comparación al grupo control este grupo presentó en promedio un valor que es casi el doble al grupo control en tanto la desviación es similar al grupo control.

**Tabla N°15: Gel con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30% resistencia de la herida en gramos de arena**

Descripción de los gramos de resistencia*						
N° Heridas	1	2	3	4	5	6
Resistencia (g)	270.00	305.00	216.00	256.00	245.00	275.00
Análisis estadístico*						
Promedio	261.17					
Mediana	263.00					
Desviación estándar	30.06					

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el grupo tratado con la asociación de gel con extractos de ambos materiales vegetales *Bidens pilosa* (amor seco) y *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30% cuyos resultados se muestran la Tabla N° 16, muestra como promedio final un valor de

65

308.67 gramos, con una mediana de 308 gramos y una desviación estándar de 9.54. En comparación al grupo control este grupo presentó en promedio un valor que es el doble al presentado al grupo control en tanto la desviación es la menor de todos los grupos.

**Tabla N°16: Gel con asociación de extractos al 30% (15:15) resistencia de la herida en gramos de arena**

Descripción de los gramos de resistencia*						
N° Heridas	1	2	3	4	5	6
Resistencia (g)	305.00	316.00	296.00	311.00	322.00	302.00
Análisis estadístico*						
Promedio	308.67					
Mediana	308.00					
Desviación estándar	9.54					

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el grupo tratado con la especialidad farmacéutica comercial CICATRICURE ® con acción cicatrizante cuyos resultados se muestran en la Tabla N° 17, muestra como promedio final un valor de 260.83 gramos, con una mediana de 256.50 gramos y una desviación estándar de 15.35. En comparación al grupo control este grupo presentó en promedio un valor que es superior presentado al grupo control en tanto la desviación es la segunda menor de todos los grupos.

**Tabla N°17: Especialidad farmacéutica cicatrizante en gel resistencia de la herida en gramos de arena**

Descripción de los gramos de resistencia*						
N° Heridas	1	2	3	4	5	6
Resistencia (g)	255.00	245.00	288.00	268.00	251.00	258.00
Análisis estadístico*						
Promedio	260.83					
Mediana	256.50					
Desviación estándar	15.35					

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El ANOVA practicado y cuyos resultados se muestran en la Tabla N° 18 tuvo como finalidad determinar la diferencia o similitud entre los grupos experimentales (control, gel con extracto de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 30%, gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20%, gel con asociación de drogas al 30% y especialidad farmacéutica cicatrizante). También se trabajó con un nivel de significancia del 0.05. Como se observa en el cuadro el Sig. Es igual a 0.000 valor que es inferior al nivel trabajado por lo que se asume la diferencia entre los distintos grupos de tratamiento.

**Tabla N°18: Anova de los gramos de arena de resistencia de la herida de los grupos experimentales**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	196868,467	4	49217.117	35.843	.000
Intra-grupos	34327,833	25	1373.113		
Total	231196,300	29			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

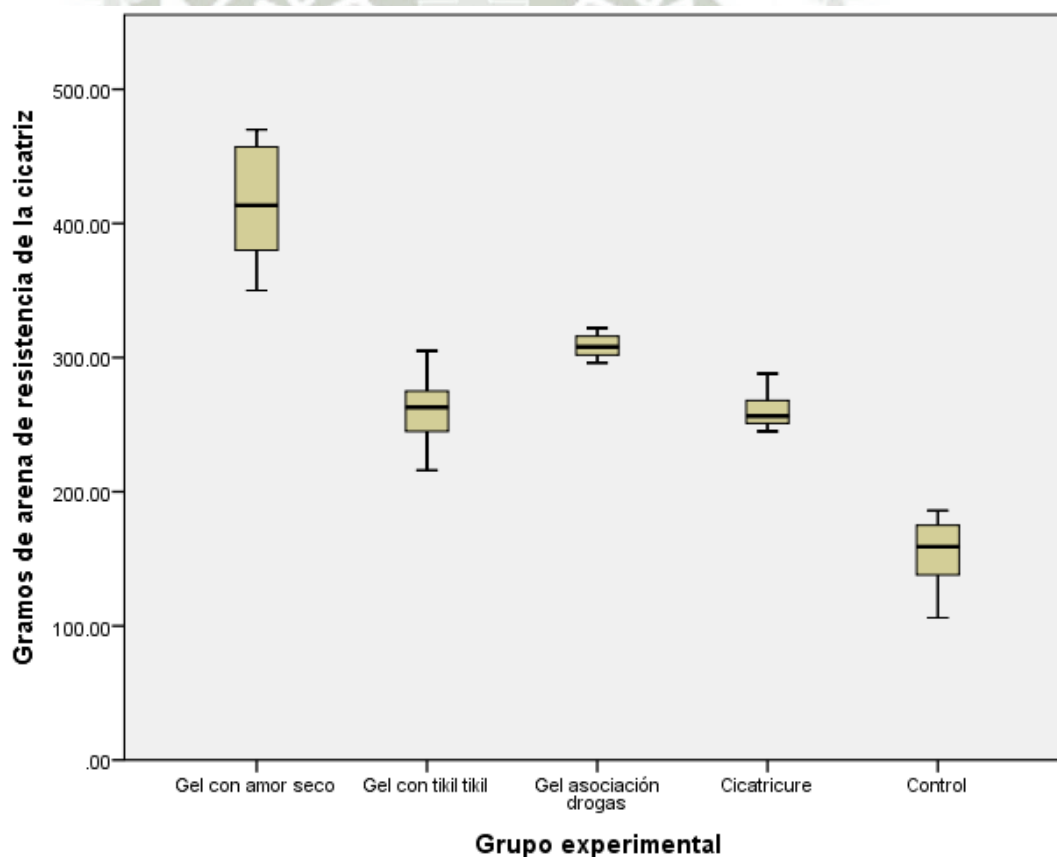
El test de Tukey agrupa los grupos que presentan similitudes estadísticamente significativas y discrimina de los grupos que son estadísticamente diferentes y cuyos resultados a un nivel del 0.05 se muestran en Tabla N°19, señala que el grupo control es distinto a los demás grupos de tratamiento. Por lo que la manipulación de la variable dependiente que fue la cicatrización se distingue del proceso sin intervención, a su vez los grupos experimentales constituido por el gel con *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y el gel con asociación de drogas al 30% son similares y estadísticamente diferentes del grupo tratado con gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20%. Si se consideran estos resultados en atención al test de Tukey y a los promedios grupales podríamos concluir que el tratamiento con mayor eficacia cicatrizante fue el correspondiente al grupo tratado con gel con extracto de amor seco al 20%, seguidos al grupo tratado con gel con *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y la

asociación de drogas que incluye además al grupo tratado con especialidad farmacéutica.

**Tabla N°19: Test de Tukey de los gramos de arena de resistencia de los grupos experimentales**

Grupo experimental	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	6	153.83		
Cicatricure	6		260.83	
Gel con tikil tikil 30%	6		261.16	
Gel asociación drogas 30%	6		308.66	
Gel con amor seco 20%	6			414.00
Sig.		1.00	0.20	1.00

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA



**Figura N°26: Promedios de gramos de arena resistencia de los grupos experimentales**

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el ámbito hospitalario las heridas son de necesidad quirúrgica sin embargo para su cicatrización pocas veces se recomienda plantas medicinales, a diferencia de ello en el hogar son frecuentes las heridas, quemaduras e infecciones, y muchas veces un solo remedio herbario puede paliar las tres situaciones de manera indistinta. El tratamiento de las heridas y quemaduras requiere aliviar el dolor, prevenir la infección y facilitar la regeneración del tejido. Son dos afecciones bastante comunes que se producen con frecuencia especialmente en el hogar. Del mismo modo ocurre con los cortes, abrasiones y heridas pequeñas, que para su tratamiento la población recurre no solo a la limpieza del área afectada con agua y jabón, sino al uso de antisépticos para la “limpieza de la herida” a ello se adiciona la necesidad de un tratamiento tendiente a la buena cicatrización necesario a veces en zonas expuestas de la piel. Ante esta necesidad surge el uso de tratamientos naturales, y los más frecuentes en nuestra localidad son el uso de las plantas *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y *Bidens pilosa* (amor seco).

En cuanto a *Lippia nodiflora* (tikil tikil), existen en nuestro medio estudios donde se encontró actividad cicatrizante de sus extractos <sup>(14, 47)</sup>, ello sumado al amplio uso tradicional con este fin. Situación contraria ocurre con los extractos de *Bidens pilosa* (amor seco) en donde los antecedentes no se encuentran disponibles, estando solo presente el uso tradicional. Los resultados finales del presente estudio señalan actividad cicatrizante en los geles conteniendo los extractos de ambos, situando según el test de Tukey al gel con *Bidens pilosa* (amor seco) al 20% con mayor eficacia cicatrizante, por debajo – y con similar eficacia a la especialidad cicatrizante los geles de *Lippia nodiflora* (tikil tikil) y la asociación de ambos extractos al 30%

## CONCLUSIONES

En la presente investigación se llega a las siguientes conclusiones:

1. La obtención de extractos de hojas de *Bidens pilosa* (amor seco) y *Lippia nodiflora* (tikil tikil) fue por el método de percolación obteniéndose mayor porcentaje de rendimiento para el extracto de *Bidens pilosa* (amor seco)
2. El análisis fitoquímico preliminar de los extractos de *Bidens pilosa* (amor seco) y *Lippia nodiflora* (tikil tikil), reveló para ambos extractos la presencia de terpenos, flavonoides, taninos y alcaloides.
3. Se elaboraron los geles a base de carbopol con los extractos de hojas de *Bidens pilosa* (amor seco) y *Lippia nodiflora* (tikil tikil) al 20 y 30% respectivamente además de la asociación de ambos.
4. Se encontró que el gel con extracto de hojas de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20%, tiene mayor eficacia cicatrizante solo que asociado.
5. Al comparar el efecto cicatrizante de los geles con extractos solos y asociados se demostró tanto por la prueba estadística de Anova y el test de Tukey que el gel con extracto de *Bidens pilosa* (amor seco) al 20% es el de mayor eficacia cicatrizante a un nivel de confianza de 0.05 bajo un esquema experimental en ratas de laboratorio.

## SUGERENCIAS

1. Realizar estudios de control de calidad y estabilidad controlados a los geles con extracto etanólico de *Bidens pilosa* (amor seco).
2. Determinar la actividad cicatrizante de *Bidens pilosa* (amor seco) en otras especies de animales y posteriormente realizar investigaciones clínicas de fase I en humanos sanos voluntarios
3. Formular y evaluar un gel de *Bidens pilosa* (amor seco) asociados a otros extractos vegetales o principios activos con reconocidos estudios de eficacia sobre el proceso de cicatrización
4. Realizar otras presentaciones farmacológicas a base de extractos de hojas de *Bidens pilosa* (amor seco)

## BIBLIOGRAFIA

1. Ahmed, F.1; Selim, M. S. T.2; Das, A. K.2; Choudhuri, M. S. K.3 Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Lippia nodiflora* Linn. 2004.
2. Apuntes Médicos del Perú: APUNTES DE CIRUGÍA GENERAL. 2ª Edición. 2009. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
3. Arroyo J, Bonilla P, Ráez E, Suárez S, Palomino R, Terán S, et al. Compuestos fenólicos de la fracción metanólica de *Bidens pilosa*, sobre la neoplasia gástrica, inducida en ratas. AnFacMed. 2007.
4. Baltodano T. Lady C., Yaipen Ch. Juan E. y Fuertes R. César M., “Obtención, caracterización y diseño de una forma farmacéutica semisólida (ungüento) a base de quitosano con efecto cicatrizante”
5. Barnes Joanne, Anderson Linda y Phillipson David: HERBAL MEDICINES. 3ª Edición, Pharmaceutical Press. 2007.
6. Brack Egg Antonio: DICCIONARIO ENCICLOPÉDICO DE PLANTAS ÚTILES DEL PERÚ. 1ª Edición. 1999.
7. Bravo Díaz Luis: FARMACOGNOSIA. 1ª Edición. 2003. Editorial Elsevier. Madrid, España.
8. Bonilla P.; Guillermo F y Arroyo J. “EFECTO CICATRIZANTE DEL TALLO SUBTERRÁNEO *PEPEROMIA SCUTELLAEFOLIA* P. EN GELES APLICADOS A *RATUS NOVERGICUS*” Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima 2005.
9. BÜCHI Labortechnik AG R-3 Manual de instrucciones, versión C
10. Bruneton J.: FARMACOGNOSIA FITOQUÍMICA PLANTAS MEDICINALES. 2ª Edición. 2001. Editorial Acribia S.A.
11. Brunicardi Charles (Editor): SCHWARTZ PRINCIPIOS DE CIRUGÍA. 8ª Edición. 2005. Editorial McGraw Hill.
12. Cabezas Román, Gabriela Dolores, “Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) en ratones. Ecuador 2014.

13. Carrasco Díaz S.; METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, 1ª Edición. 2005. Editorial San Marcos. Lima, Perú.
14. Cesar Fernando Zuñiga Quiroz, EFICACIA CICATRIZANTE DE LA LIPPIA SUBTERRANEA (TIQUIL TIQUIL) EN LA CICATRIZACION CLINICA POST EXODONCIA DE LA MUCOSA ALVEOLAR, EN PACIENTES DEL HOSPITAL NACIONAL CARLOS ALBERTO SEGUIN ESCOBEDO AREQUIPA 2007.
15. Coello Brito, Romulo Javier, “Elaboración y control de calidad de gel cicatrizante a base de *Aloe Vera* (sábila) y *Calendula officinalis* (caléndula). Ecuador 2012.
16. Cornejo Rodriguez, Christian Paul y Pinto Arrieta, tesis: “EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL TÓPICO A BASE DE CKETO CKETO (GAMOCHAETA AMERICANA), EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. AREQUIPA-2011.
17. Darr, A., Tecnología Farmacéutica., Zaragoza-España., Editorial Acribia S.A., 2001.
18. :D Cabrera R., Liceth; Determinar el efecto de *Bidens pilosa* (PIRCA) sobre la diuresis y los electrolitos séricos y urinarios en ratas AREQUIPA 2002.
19. Dimo T, Rakotonirina S, Tan P, Azay J, Dongo E, Cros G. Leaf methanol extract of *Bidens pilosa* prevents and attenuates the hypertension induced by highfructose diet in Wistar rats. J Ethnopharmacol. 2002.
20. Duke A.James HANDBOOK OF MEDICINAL PLANTS OF LATIN AMERICA. 1ª Edición. CRC Press. 2007.
21. Domínguez Suárez A. & otros: “EFECTO CICATRIZANTE DE EXTRACTO FLUIDO DE HOJAS DE SIEMPRE VIVA” Facultad de Ciencias Médicas de Matanzas. Argentina 2001.
22. Cando, M., Comparación del Efecto Cicatrizante de geles elaborados a base de propóleo y caléndula en heridas de conejos., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica de Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba-Ecuador.

23. Chang J, Chiang L, Chen C, Liu L, Wang K, Lin C. Antileukemic activity of *Bidens pilosa* L. var. *minor* (Blume) Sherff and *Houttuyniacordata* Thunb. *Am J Chin Med.* 2001.
24. Falabella R., Victoria J., Barona M., Domínguez L.: *DERMATOLOGÍA*, 6ª Edición 2004. Fondo Editorial CIB, Colombia.
25. Farahpour M, Habibi M. Evaluation of the wound healing activity of an ethanolic extract of *Ceylon cinnamon* in mice. *Veterinarni Medicina.* 2012; 57, pp 53-57.
26. Ferraina Pedro, Oría Alejandro: *CIRUGÍA DE MICHANS*, 4ta Edición. 2003. Editorial el Ateneo. Buenos Aires, Argentina.
27. García , M., Cuantificación de fenoles y flavonoides en extractos naturales., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Universidad Autónoma de Querétaro., Querétaro- México., TESIS., 2012
28. Hidalgo Alegria Oriana, Determinación del efecto cicatrizante del extracto acuetanolico de la planta *Bacopaprocumbens* en la línea celular 3T3 de fibroblastos. 2010.
29. Howes E, Sooy J, Harvey S. The healing of wound as determined by their tensile strength *J.A.M.A.* [The Journal of the American Medical Association] 1929
30. Kukllinski C.: *FARMACOGNOSIA, ESTUDIO DE LAS DROGAS Y SUSTANCIAS MEDICAMENTOSAS DE ORIGEN NATURAL*, 1ª Edición, 2000. Ediciones Omega S.A.
31. Lazo b. Fernanda, Huamán J. Elizabeth, “Evaluación del efecto cicatrizante de los extractos (fluido y glicólico) y la crema de *Aloysiaspathulata* (Chiquilla) en heridas incisas inducidas en animales de experimentación”, Tesis del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María, Arequipa-2012
32. Lock de Ugaz O.: *INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA MÉTODOS EN EL ESTUDIO DE PRODUCTOS NATURALES.* 1ª Edición. 1988. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.

33. Makkar H., Siddhuraju and Klaus Becker: PLANT SECONDARY METABOLITES, First Edition. Humana Press. 2007.
34. Marcano Deanna y Hasegawa Masahisa: FITOQUÍMICA ORGÁNICA. 2ª Edición. 2002. Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
35. Martínez, J., Prevención y Tratamiento de Úlceras y Escaras., Madrid España., Editorial Publicaciones Vértices S.L., 2006.
36. Mattson Porth Carol: FUNDAMENTOS DE FISIOPATOLOGÍA. 3ª Edición. 2013. Editorial Lippincott Williams & Wilkins. España.
37. Méndez Martines & Col.: “EFECTO CICATRIZANTE DE LA POMADA PREPARADA CON DORSTENIA DRAKENA L. (MORACEAE) EN HERIDAS CUTÁNEAS”. Universidad Autónoma de México 2008.
38. Ministerio de Sanidad y Consumo de España. Formulario Nacional, 1ª Edición. Editorial Ministerio de Sanidad y Consumo de España; 2003.
39. Mithun Vishwanath K Patil, Amit D Kandhare, Sucheta D Bhise, “Pharmacological evaluation of ethanolic extract of Daucus carota Linn root formulated cream on wound healing using excision and incision wound model”, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2012.
40. Mostacero J.; Mejia F.; Gamarra O.: TAXONOMÍA DE LAS FANERÓGAMAS ÚTILES DEL PERÚ. 1ª Edición. 2002. Editorial Normas Legales S.A.C. Perú.
41. Paredes M.; Veliz A.: “EFECTO CICATRIZANTE DE UN PREPARADO DERMATOLÓGICO A BASE DE BABA DE CARACOL HELIX ASPERSA EN HERIDAS DE PIEL PRODUCIDAS EXPERIMENTALMENTE”. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Católica de Santa María. Arequipa 2007.
42. Parrilla Paricio P. & Landa García J. (Directores): CIRUGÍA AEC. 2ª Edición. 2010. Editorial Médica Panamericana, S.A. España.
43. Proaño Escudero, Janneth Patricia, “Comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de *Rosmarinus officinalis* (Romero), *Piper aduncum* (Matico)

- y *Equisetum arvense* (Cola de caballo) en heridas inducidas en ratones. Ecuador 2013”
44. Quiroz Martínez Ruth Estefanía. “Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de Nogal (*Juglansneotrópica* Diels), ORTIGA (*Urtica dioica* L.), SÁBILA (*Aloe vera*), en ratones (*Mus musculus*)” ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. 2013.
45. Rangachari Balamurugan; Veeramuthu Duraipandiyam,; Savarimuthu Ignacimuthu Antidiabetic activity of  $\gamma$ -sitosterol isolated from *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced diabetic rats European Journal of Pharmacology, Volume 667, 2011.
46. Rabe T, vanStaden J. Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes J Ethnopharmacol. 1997.
47. Siles Flores, Anny Mabel; Vilca Cordova, Gina Flor de Maria, EFECTO DE LA LIPPIA SUBTERRÁNEA (TIQUIL TIQUIL) SOBRE LESIONES DE LA MUCOSA GÁSTRICA PROVOCADAS EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION, AREQUIPA, 2002
48. Sotta ApazaN.”Plantas medicinales y aromáticas de la región Arequipa” 1° Edición. Ediciones CORDAID.
49. Tan P, Dimo T, Dongo E. Effects of methanol, cyclohexane and methylene chloride extracts of *Bidens pilosa* on various gastric ulcer models in rats. J Ethnopharmacol. 2000.
50. Torres, Tovar Humberto, Pino Figueroa Alejandro. “Guía de Prácticas de Farmacognosia I” UCSM. 2002.
51. Trott, A., Heridas y Cortes: Tratamiento y Sutura de Urgencia., 3a.ed., Zaragoza-España., Editorial ElsevierMosby., 2007.
52. Vargas Carbajal, Carlos Javier, “Estudio de la actividad cicatrizante y antiinflamatoria del extracto alcohólico de las hojas de *Sennareticulata* (Willd.) H. Irwin & Barneby (Retama).

53. Vila Jato José Luis (Editor): TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA. 1ª Edición 2001. Editorial SINTESIS S.A.
54. Villar del Fresno A. (Editor): FARMACOGNOSIA GENERAL. 1ª Edición 2000. Editorial Síntesis S.A.
55. Villena Vargas, G. Tesis: “efecto Antibacteriano in vitro del extracto de Bidens pilosa L.VAR MINOR (amor seco) frente a cepas, Staphylococcus aureus, Staphylococcus albus y Echerichia coli” 2010.
56. Wayne Daniel: BIOESTADÍSTICA, BASE PARA EL ANÁLISIS DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD. 4ª Edición, 2007. Editorial Limusa S.A. México.





**Tabla N°1: Selección aleatoria de heridas en animales de experimentación para la prueba piloto**

Numero de ratas	Control	Gel con extracto de amor seco 20%	Gel con extracto de amor seco 30%	Gel con extracto de tikiltikil 20%	Gel con extracto de tikiltikil 30%
1		I		D	
2	D		I		
3	D			I	
4		I	D		
5	I				D
6			I		D
7				D	
8		D			I
<b>TOTAL</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>

**Tabla N°2: Selección aleatoria de heridas en animales de experimentación para la prueba final.**

<b>Heridas</b>	<b>Control</b>	<b>Gel con extracto de amor seco 20%</b>	<b>Gel con extracto de tikiltikil 30%</b>	<b>Gel con extracto de amor seco y tikiltikil 30%</b>	<b>Gel cicatricure®</b>
1				D	I
2		D	1		
3	D				I
4		I		D	
5	D				I
6		I		D	
7	I		D		
8	D	I			
9		I		D	
10	D				I
11			D		I
12	D		I		
13		D			I
14			I	D	
15			D	I	
<b>TOTAL</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>