



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL
A BASE DE EXTRACTO LIOFILIZADO DE LAS HOJAS
DE *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (HIERBA SANTA), A
DIFERENTES CONCENTRACIONES EN *Rattus rattus var.*
*albinus***

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

AUTOR

MALDONADO COLLAS, ZAEMA GINA

ORCID: 0000-0002-3562-0088

ASESOR

ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA

ORCID: 0000-0003-2547-9831

CHIMBOTE – PERÚ

2020

**EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL
A BASE DE EXTRACTO LIOFILIZADO DE LAS HOJAS
DE *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (HIERBA SANTA), A
DIFERENTES CONCENTRACIONES EN *Rattus rattus var.*
*albinus***

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Maldonado Collas, Zaema Gina

ORCID: 0000-0002-3562-0088

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Egresada, Chimbote, Perú

ASESOR

Zevallos Escobar, Liz Elva

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de La Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú

JURADO

DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

RODAS TRUJILLO, KAREM JUSTHIM

ORCID: 0000-0002-8873-8725

JURADO EVALUADOR Y ASESOR

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Walter Teodoro Ramírez Romero

Miembro

Mgtr. Karem Justhim Rodas Trujillo

Miembro

Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar

Asesora

AGRADECIMIENTO

A Dios por bendecirme y acompañarte siempre, por guiarme a mi meta y estar en mis peores y mejores momentos.

A mi madre Reina por ser quien me brinda su apoyo incondicional, por darme la fuerza y apoyo en los momentos difíciles y sobre todo por enseñarme a no rendirme y perseverar.

A la Mgtr Liz Elva Zevallos Escobar, por guiarme durante todo el proceso de este trabajo de investigación, a su vez por los conocimientos compartidos y su paciencia para conmigo.

A mi alma mater la Universidad Católica Los ángeles de Chimbote, Escuela profesional Farmacia y Bioquímica, por acogerme y brindarme una enseñanza de calidad, con excelente plana docente, por haber facilitado la utilización de los materiales de laboratorio, equipos y reactivos para la ejecución del presente trabajo de investigación.

DEDICATORIA

Dedicado a mi madre Reina, con mucho cariño por ser quien me brinda su amor incondicional, y darme fuerzas cuando estuve a punto de rendirme. Decirle que la amo y dedico este trabajo.

A mis hermanos, Alder y José, por su amor y comprensión, por darme momentos de alegría, aliento y apoyo permanente. Gracias a ustedes aprendí que la unión no solo nos hace fuertes, sino que nos ayuda a darnos cuenta que nunca estamos solos, y que siempre habrá un lugar a donde volver.

A mis amigas Ángela, Benigna, Marcela y Nelly por sus consejos, su compañía y sus palabras de aliento cuando pensaba rendirme, gracias por su amistad.

A mi novio Robin Flores, por su comprensión y cariño, por acompañarme y estar en mis momentos difíciles. Por nuestro presente y futuro.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como principal objetivo Evaluar el efecto cicatrizante del gel a base del extracto liofilizado de hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. al 2% y 4%. Se aplicó el modelo de “lesión inducida por corte en ratas”. Se trabajó con 4 grupos; blanco (sin tratamiento), patrón (Pantenol 5%), experimental I (gel al 2%) y experimental II (gel al 4%). Los metabolitos secundarios más abundantes encontrados fueron taninos, flavonoides y saponinas. En los parámetros “Enrojecimiento y Aumento de temperatura” el gel al 2% y 4% presentaron 0% al 2do día, y los tratados con Pantenol 5% y sin tratamiento 25% y 75%; la “Formación de Costra Completa” se evidenció por el gel al 2% y 4% al 3er día, los tratados con Pantenol 5% y sin tratamiento al 4to y 5to día; la “Caída de Costra Completa” se evidenció por el gel al 4% al 7mo día, los tratados con Pantenol 5% y gel al 2% al 9no día, y el grupo sin tratamiento al 12vo día; la “Cicatrización Completa”, se evidenció por el gel al 4% al 8vo día, los tratados con Pantenol 5% y gel al 2% al 10mo día, y el grupo sin tratamiento al 13vo día. El tiempo promedio de cicatrización de los grupos experimental I y II fueron de 8 ± 0.4 y 7 ± 0.4 días, y del patrón y blanco 9 ± 0.8 y 12 ± 1.2 , demostrando una diferencia estadísticamente significativa, donde $p < 0,05$ ($p = 0,00006$) con un nivel de confianza de 95%. El porcentaje de reducción del tiempo de cicatrización de los grupo experimental I y II fueron al 66.67% y 58.33% y del patrón y blanco al 75% y 100%. El gel al 4% presenta mejor efecto cicatrizante, mientras que el gel al 2% un efecto semejante al pantenol 5%.

Palabras claves: *Cestrum auriculatum*, Cicatrizante, Liofilizado, Gel.

ABSTRACT

The main objective of this research work is to evaluate the healing effect of the gel based on the lyophilized extract of *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav leaves. at 2% and 4%. The "rat cut-induced injury" model was applied. We worked with 4 groups; blank (no treatment), standard (5% Panthenol), experimental I (2% gel) and experimental II (4% gel). The most abundant secondary metabolites found were tannins, flavonoids and saponins. In the parameters "Redness and Increase in temperature" the gel at 2% and 4% presented 0% on the 2nd day, and those treated with Panthenol 5% and without treatment 25% and 75%; The "Complete Crust Formation" was evidenced by the gel at 2% and 4% on the 3rd day, those treated with Panthenol 5% and without treatment on the 4th and 5th day; The "Complete Scab Loss" was evidenced by the 4% gel on the 7th day, those treated with 5% Panthenol and 2% gel on the 9th day, and the group without treatment on the 12th day; the "Complete Healing" was evidenced by the 4% gel on the 8th day, those treated with 5% Panthenol and 2% gel on the 10th day, and the group without treatment on the 13th day. The average healing time of experimental groups I and II were 8 ± 0.4 and 7 ± 0.4 days, and of the pattern and blank 9 ± 0.8 and 12 ± 1.2 , reporting a statistically significant difference, where $p < 0.05$ ($p = 0.00006$), with 95% of confidence. The percentage of reduction in healing time of experimental groups I and II were 66.67% and 58.33% and of the standard and blank at 75% and 100%. The 4% gel has a better healing effect, while the 2% gel has an effect similar to 5% panthenol.

Keywords: *Cestrum auriculatum*, Healing, Lyophilized, Gel.

ÍNDICE DE CONTENIDO

JURADO EVALUADOR Y ASESOR	iv
RESUMEN	viii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	8
2.1 Antecedentes	8
2.2 Bases teóricas	13
2.2.1 La piel	13
2.2.2 Heridas en la piel	18
2.2.3 Cicatrización	18
2.2.4. Gel.....	20
2.2.5. Liofilización.....	23
2.2.6. Planta medicinal en Estudio.....	24
III. HIPÓTESIS	27
3.1 Hipótesis Nula:	27
3.2 Hipótesis Alternativa:	27
IV. METODOLOGÍA	28
4.1. Diseño de la investigación	28
4.1.1. Tipo de investigación.....	28
4.1.2. Diseño de la investigación.....	28
4.2. Población y muestra	29
4.2.1. Material Vegetal:.....	29
4.2.2. Material biológica.....	30

4.3. Definición y operacionalización de variables	31
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	33
4.4.1 Marcha Fitoquímica	36
4.4.2. Obtención del Extracto liofilizado	39
4.4.3. Elaboración del Gel	41
4.4.4. Determinación de las características Fisico-Químicas	42
4.4.5. Evaluación del Efecto cicatrizante	43
4.5. Plan de análisis	46
4.6. Matriz de consistencia	47
4.7. Principios éticos	49
V. RESULTADOS	50
5.1 Resultados	50
5.2. Análisis de Resultado	59
VI. CONCLUSIONES	67
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	69
ANEXO	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales metabolitos del extracto hidroalcolico de las hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa).....	50
Tabla 2. Características Fisico-químicas del gel elaborado a base del extracto liofilizado de hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4%.....	41
Tabla 3. Parámetro del proceso de cicatrización “Enrojecimiento y Aumento de temperatura (EA)” en <i>Rattus rattus var. albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento en función del tiempo (días).....	52
Tabla 4. Parámetro del proceso de cicatrización “Formación de Costra Completa (Fcc)” en <i>Rattus rattus var. albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento en función del tiempo (días).....	53
Tabla 5. Parámetro del proceso de cicatrización “Caída de Costra Completa (Ccc)” en <i>Rattus rattus var. albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento en función del tiempo (días).....	54
Tabla 6. Parámetro del proceso de cicatrización “Cicatrización Completa (Zc)” en <i>Rattus rattus var. albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento en función del tiempo (días).....	55

Tabla 7. Tiempo promedio de cicatrización en <i>Rattus rattus var. albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.....	56
Tabla 8. Análisis de Varianza del tiempo promedio de cicatrización en <i>Rattus rattus var. albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.....	57
Tabla 9. Reacciones de identificación y metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) según Fracciones.....	82
Tabla 10. Seguimiento diario de los parámetros de cicatrización de los ratones por grupos.....	84
Tabla 11. Parámetro del proceso de cicatrización “Inicio de Formación de Costra (Ifc)” en <i>Rattus rattus var. albinus</i> de los diferentes grupos de experimentación en función del tiempo (días).....	86
Tabla 12. Parámetro del proceso de cicatrización “Inicio de Caída de Costra (Icc)” en <i>Rattus rattus var. albinus</i> de los diferentes grupos de experimentación en función del tiempo (días).....	87
Tabla 13. Tiempo promedio de cicatrización en <i>Rattus rattus var. albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.....	88
Tabla 14. Análisis de comparación múltiple de Tukey del tiempo promedio de cicatrización en <i>Rattus rattus var. albinus</i> entre los grupos de tratamiento.....	90

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Porcentaje de reducción del tiempo promedio de cicatrización en <i>Rattus rattus var. albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.....	58
Gráfica 2. Intervalos de confianza en función de la media del tiempo promedio de cicatrización en <i>Rattus rattus var. albinus</i> entre los grupos de tratamiento.....	89
Gráfica 3. Intervalos de confianza de las diferencias de las medias del tiempo promedio de cicatrización en <i>Rattus rattus var. albinus</i> entre los grupos de tratamiento.....	91

ÍNDICE DE ESQUEMAS

<i>Esquema n° 01</i> Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav.....	35
<i>Esquema n° 02</i> Obtención de Fracciones (A - F) necesarias para el estudio fitoquímica de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. basado en Lock ⁴⁵ (Modificado y adaptado por el laboratorio de la ULADECH	37
<i>Esquema n° 03</i> Obtención del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav.	40
<i>Esquema n° 04</i> Evaluación del efecto cicatrizante del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav.....	45

I. INTRODUCCIÓN

Existen muchas culturas, cada una de ellas con sus propias creencias y prácticas sobre cómo mejorar, prevenir y recuperar la salud. A todas estas prácticas se denomina Medicina tradicional, y está relacionado con el uso de las propiedades terapéuticas de las plantas medicinales¹.

Gallardo y Barboza² mencionan que las plantas medicinales desde la antigüedad son importantes para la práctica médica, como principal recurso tradicional en la salud, en la actualidad, los países en desarrollo siguen utilizando las plantas medicinales.

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS)³ en el mundo existe cerca de 17 países con megadiversidad, dentro de ellos, ocho se encuentran en nuestro continente, América Latina, tales como Bolivia, Venezuela, Brasil, México, Ecuador, Costa Rica, Colombia y Perú. A su vez afirma que menos del 10% de las plantas existentes en el mundo, han sido investigadas científicamente con fines terapéuticos, y que además cerca de 15 000 plantas medicinales están en peligro de extinción.

Las plantas medicinales son importantes en nuestra vida diaria porque nos ofrecen una medicina natural y sin costo, por su tradición nos da confianza su poder curativo, de manera segura alivia nuestros males; el 80% de las personas a nivel mundial hace uso de las plantas medicinales para tratar enfermedades y dolencias. También tienen un uso importante en la prevención de diversas enfermedades, y con un costo muy inferior al de los fármacos^{1,4}.

Desde tiempos inmemorables, las plantas medicinales, han tenido un rol de importancia en la vida del hombre; quien tuvo la oportunidad de aprender los principios curativos de muchas plantas que hasta la actualidad son de gran ayuda para las enfermedades y también para prevenirlas.

El Perú es uno de los más ricos en variedad de plantas medicinales, varias de estas plantas son utilizadas desde tiempos ancestrales, por eso es importante conocer de manera mucho más detallada las propiedades de las plantas medicinales que son utilizados en investigaciones. Cada día, las personas toman conciencia sobre los cuidados de su salud y sobre la utilización de remedios naturales, por ello utilizan plantas porque éstas proporcionan un bienestar físico y una alimentación saludable^{5,6}.

Las plantas medicinales fueron usadas de manera empírica a través de las generaciones, mientras que, en la actualidad, es un tema muy investigado especialmente para la búsqueda de actividad farmacológica. Para el tratamiento y prevención de enfermedades crónicas y de alta complejidad se pueden usar como apoyo las propiedades diversas de las plantas medicinales. Debemos tener en cuenta que parte de estas estructuras pueden ser tóxicas o inactivas^{4,7}

El Seguro Social de Salud (EsSalud)⁸ refiere que el 76 % de los asegurados están dispuestos a recibir tratamiento con plantas medicinales, a su vez casi 90,000 asegurados por año ya utilizan los servicios de Medicina Complementaria (MC).

El país presenta una limitación relacionada al acceso en atención médica, por lo que la sociedad decide recurrir en muchos casos a la utilización de remedios “caseros o

populares” como las plantas medicinales, ya sea para disminuir y contrarrestar sus enfermedades, a su vez donde el acceso a un medicamento no es posible o representan un elevado costo⁹. Es necesario, como profesionales de salud, contar con conocimientos de los remedios naturales, puesto que ofrecen alternativas económicas y un tratamiento más seguro.

Existen diferentes modelos en animales del efecto cicatrización de una planta medicinal que permiten los procesos de regeneración de la piel y evaluación de tratamientos clínicos. Los animales de experimentación más usados para esta demostrar del efecto cicatrizante son los ratones, ratas, conejos y cuyes. Para evaluar el efecto de cicatrización se realiza la lesión por incisión o quemadura¹⁰.

Gallardo y Barboza² refieren que una herida es un evento complejo en el que están presentes varios factores como ambientales o fisiopatológicos. A su vez también considera que las alteraciones más frecuentes para el cierre de la lesión son la infección y la exageración del proceso inflamatorio.

Para fines de la presente investigación, resalto el efecto cicatrizante de la Hierba Santa, a pesar que esta planta medicinal es utilizado en varias ciudades de nuestro país para lavar heridas y ayudar a su cicatrización, no se encuentran investigación que apoyen o sustenten esta propiedad, por tal motivo nace el interés para investigar y demostrar su efecto cicatrizante y contribuir con la Medicina tradicional y la mejora de nuestra Salud.

En una entrevista realizada a los pobladores de la ciudad de Aija, departamento de Ancash, manifestaron que la hierba santa es una de las plantas más usadas por la población en inflamaciones de Garganta, sarpullidos en los niños, como relajante y como cicatrizante de heridas superficiales en la piel. La forma en la que la utilizan para lavar heridas es agregar un puñado de hojas en 4 tazas de agua y hervirlo por 15 minutos aproximadamente; dejan enfriar por 5 minutos y luego se lavan la herida de 3 a 5 veces repetidas, una vez al día.

La especie vegetal en estudio, *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa), alivia los resfríos, fiebre, sarampión, cólicos. También se utiliza cuando los bebés presentan sarpullido, en caso de hemorroides, caspa, inflamaciones bucofaríngeas, astringente, sudorífico, sedante, además ayuda a cicatrizar cortes en la piel evitando su enrojecimiento. La importancia de su uso está fundamentada en sus amplios beneficios mencionados anteriormente, aunque no todos sus efectos han sido estudiados^{11,12}.

De las especies vegetales se pueden preparar y administrar en una forma farmacéutica definida, va a depender de la acción terapéutica. Una de las formas farmacéuticas más fáciles de preparar y económicas son los geles.

El gel es una forma farmacéutica semisólida, caracterizada por presentar mayor viscosidad que el agua. Se aplican sobre la piel o mucosas porque actúa de forma local permitiendo la penetración del principio activo. Es útil en zonas pilosas ya que al contacto de piel disminuye su viscosidad por la temperatura que presenta la piel, a su vez tiende a perder el agua de manera rápida (efecto evanescente)¹³.

El presente estudio brinda un aporte significativo al tratamiento de heridas para su pronta cicatrización, a su vez brindará una forma farmacéutica adecuada para su aplicación, como lo es el Gel, la cual proporcionará una gran ventaja para la población, ya que es elaborado de una fuente natural (planta medicinal).

En las investigaciones sobre los metabolitos secundarios del *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav., se encontró varias diferencias como por ejemplo en la investigación de Alvarado¹⁴, los metanolitos presentes fueron alcaloides, antraquinonas, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas y taninos, mientras que Mejía y Rengifo¹⁵ menciona azufre orgánico, taninos, saponinas, heterósidos cianogénicos y mucílagos. Por tal motivo se realizará un marcha fitoquímica de los metabolitos secundarios presentes en el *Cestrum auriculatum*.

Además, es importante volver a utilizar las plantas medicinales ya que no presentan tantos efectos colaterales en la salud, y se evaluará el efecto cicatrizante del *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. a través de una formulación (gel) a diferentes concentraciones y se comparará con el principio activo Pantenol al 5% (*Bepanthen*®), ya que este producto comercial es un potente cicatrizante y regenerador de piel dañada.

Por lo mencionado se plantea la siguiente problemática ¿Presenta efecto cicatrizante el gel elaborado a base del extracto liofilizado de las Hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa), al 2% y 4% en *Rattus rattus var. albinus*.?

Objetivo General

- Evaluar el efecto cicatrizante del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa), al 2% y 4% en *Rattus rattus* var. *albinus*.

Objetivos específicos

- Identificar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa).
- Determinar las características Físico-químicos del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa), al 2% y 4%.
- Comparar los parámetros de Enrojecimiento y Aumento de temperatura (EA), Formación de Costra Completa (Fcc), Caída de Costra Completa (Ccc) y Cicatrización Completa (Zc), en *Rattus rattus* var. *albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento en función del tiempo (días).
- Determinar el tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus* var. *albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum*

Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.

- Determinar el porcentaje de reducción del tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus var. albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes

En el Perú han sido estudiadas las plantas medicinales para el tratamiento de heridas y afecciones de la piel, estos estudios demostraron su efecto utilizando animales experimentales donde se observó el proceso de cicatrización hasta la regeneración completa⁵.

De los diferentes usos de la “Hierba santa”, se ha comprobado la actividad antioxidante, antiinflamatorio, antibacteriana y antifúngica¹⁶⁻¹⁸. A diferencia de la actividad cicatrizante, que solo existe evidencia en libros etnobotánicas donde recopilan su descripción y usos medicinales, resaltando su uso en enfermedades de la piel (heridas superficiales, úlceras, granos), tal es el caso de *Cestrum auriculatum* y *Cestrum parqui*^{19,20}. Pero existe evidencia de la actividad cicatrizante en otra especie, *Cestrum nocturnum* (L.)²¹.

Investigaciones a nivel Internacional

Cardoza²², en su trabajo de investigación “Algunas plantas medicinales de la comunidad indígena de los Kumiai (México)”, realiza una recopilación de varias plantas medicinales de uso común por sus pobladores, dentro de ellas, describe al *Cestrum auriculatum* (Hierba Santa), donde menciona sus características botánicas, uso medicinal y preparación. Dentro de sus propiedades medicinales se resalta su uso para la tos, dolor de huesos asociado a gripe, irritaciones, llagas o heridas de la piel,

dolor de cabeza y hongos en la piel; la forma de preparación relacionada a los problemas de la piel son a través de infusión de las hojas, donde se realiza lavados repetidas veces y también en forma de cataplasma, es decir se coloca las hojas sobre la piel dañada luego de los lavados.

En el libro “Medicamentos Herbarios Tradicionales (Chile)”, se realizó una recopilación de 103 especies vegetales, donde se describen sus diferentes características, cualidades tanto curativas como agronómicas, e indicaciones terapéuticas. Dentro de ellas se destaca las propiedades medicinales del *Cestrum parqui*; el cual es utilizada para bajar la fiebre y en afecciones de la piel (heridas superficiales, úlceras, granos); se prepara en infusión con 1 cucharada de hojas para 1 litro de agua recién hervida y se aplica localmente en lavados o compresas; o como zumo de hojas exprimidas o machacadas y se coloca en la parte afectada. Se le atribuye el efecto febrífugo, antiinflamatorio y cicatrizante²⁰.

Bussmann y Sharon¹⁹, en su libro “Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía”, describe 510 plantas con propiedades medicinales que fueron registradas en los departamentos peruanos de Amazonas, Piura, Lambayeque, La Libertad, Cajamarca, San Martín y la provincia ecuatoriana de Loja. Dentro de las 21 especies pertenecientes a la familia *Solanaceae*, se describe los usos medicinales de la especie *Cestrum auriculatum*, destacando entre ellas el uso para heridas, el cual indica que se usan las hojas secas o frescas, se hierve 10g de hojas en 1 litro de agua por 3 minutos, se hace lavados a la herida 3 veces por día hasta que mejore.

El trabajo de investigación realizado por Kumar et al²¹ en la India, tuvieron por objetivo investigar el efecto de cicatrización del extracto etanólico de las hojas de *Cestrum nocturnum* L. (EECN) en ratas *Wistar Albino*, donde se utilizó el modelo de herida por escisión e incisión. Se utilizó 5 grupos de 6 animales cada uno. El G-I sin tratamiento, el G-II tratado con ungüento, G-III tratado con povidona yodada 5%, G-IV tratado con ungüento al 2% a base del EECN y G-V tratado con ungüento al 5% a base del EECN. En el análisis de estadístico se utilizó Varianza de una vía (ANOVA), la diferencia entre grupos fueron considerados significativas a niveles de $P < 0.05$. El ungüento al 2% y 5% presentó alta tasa de contracción de la herida ($P < 0.001$), disminución en el período de epitelización ($P < 0.01$), alta resistencia a la rotura de la piel ($P < 0.001$), aumento de viabilidad del colágeno alrededor del área de la herida (características histopatológicas). Concluyeron que el ungüento al 2% y 5% a base del EECN presenta efecto cicatrizante a diferentes concentraciones.

Investigaciones a nivel Nacional

En el artículo “Las plantas medicinales de la sierra central de Piura”, Saavedra²³ realizó una descripción botánica de 27 especies vegetales con interés medicinal, de los cuáles las 2 familias más representativas fueros *Asteraceae* (19%) y *Solanaceae* (14%). La información registrada incluyó nombres comunes y científicos, familia botánica y uso medicinal en la zona. Dentro de la familia *Solanaceae*, se describe a la especie *Cestrum auriculatum* (Hierba santa o hierba santa blanca), la cual es utilizada como refrigerante contra altas temperaturas corporales, producidas por fiebres internas; contra la caspa del cuero cabelludo, en casos de sarampión y heridas. También es utilizada como

sudorífero y para curar sarpullidos en los bebés. El modo de emplearla se basa en restregar las hojas y/o yemas previamente remojadas en agua fresca y puestas al sol por lo menos 1 a 2 horas, con el agua coloreada y espumosa se realiza los lavados repetidamente hasta la mejoría.

Mejía y Rengifo¹⁵, en su publicación del libro titulado “Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana” han recopilado 105 especies vegetales, de un total de 51 familias. Dentro de estas familias sobresalen las *Solanaceae*, la cual presenta 9 especies. La información registrada hace referencia a los compuestos bioactivos presentes en cada especie. La especie de interés, *Cestrum hediondinum* (*Yerba santa*) pertenece a la familia *Solanaceae*, dentro de sus compuestos bioactivos presenta mucílagos, taninos, saponinas y heterósidos cianogénicos.

En un trabajo de investigación realizado por Cruz y Zapata¹⁶ en Arequipa, evaluaron la actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica *in vitro* del extracto alcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* (Hierba santa), a su vez se identificó metabolitos secundarios por cromatografía en capa fina, obteniendo Flavonoides (flavonas, isoflavonas o flavonoles), terpenos y taninos. Para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó la técnica espectrofotométrica, demostrando que presenta alta actividad antioxidante con un porcentaje de 47.09% de inhibición. Se concluye que el extracto alcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* presenta actividad antioxidante, actividad antibacteriana y antifúngica *in vitro* frente a bacterias patógenas Gram positivas, Gram negativas y Hongos.

En un trabajo de investigación realizado por Curinambe y Zelada¹⁷ en Lima, evaluaron el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas *Cestrum auriculatum* (Hierba santa) en ratas con inducción a inflamación. El método utilizado fue edema plantar, se usó carragenina al 2% en solución fisiológica (como inductor del proceso inflamatorio); se utilizó el pletismómetro para la medición del volumen de inflamación a la 1, 3, 5 y 7 horas. Se concluye que los metabolitos secundarios obtenidos fueron saponinas, taninos, alcaloides, esteroides, triterpenoides y flavonoides; siendo este último el más abundante. El extracto hidroalcohólico de las hojas *Cestrum auriculatum* (Hierba santa) presenta efecto antiinflamatorio, su efecto es similar a la indometacina y dexametasona.

Investigaciones a nivel Local

Alvarado¹⁴ en su investigación “Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la Cordillera Negra” determinó la actividad antioxidante y citotóxica de especies vegetales. Identificó metabolitos secundarios a través de un tamizaje fotoquímico, para la actividad antioxidante trabajó con 100, 50 y 25 ug/mL y la actividad citotóxica con 166 y 333 ug/mL haciendo uso de huevos fértiles de erizo de mar. La especie de interés, el *Cestrum auriculatum*, presenta metabolitos secundarios como lactonas sesquiterpénicas, flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, antraquinonas y alcaloides. También demostró actividad antioxidante presentando el 46.40% de captación de radicales libres a concentración de 100 µg/mL de extracto metanólico, en cuanto a la actividad citotóxica demostró que no presenta mortalidad en huevos fértiles de erizo de mar.

En el trabajo de investigación “Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en hojas de *Cestrum auriculatum* L’Her (Hierba santa)” realizado por Godos²⁴ en Chimbote, tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante y polifenoles del *Cestrum Auriculatum*. Para determinar la actividad antioxidante utilizó el método de secuestro de radicales libres DPPH y para determinar contenido de polifenoles utilizó el método de Folin-Ciocalteu. De acuerdo a los resultados la actividad antioxidante in vitro fue 190.57 ± 49.04 mM trolox eq./g de hojas secas, y para la cuantificación de polifenoles fue $23,95 \pm 1,7274$ mg de catequina/g de hojas secas. Concluyendo que las hojas de *Cestrum Auriculatum* L’Her (hierba santa) presentan actividad antioxidante y contenido de polifenoles.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 La piel

a) Definición:

La piel forma una cubierta flexible y realiza muchas funciones, una de ellas es su adaptación a diferentes medios. A su vez es considerado el órgano más extenso de nuestro organismo y es aquel que nos protege de agentes dañinos externos²⁵.

La piel presenta varias capas en su estructura y es considerado un epitelial estratificado. Es un órgano autoindependiente, se comporta como una barrera semipermeable. La piel juega un papel importante en nuestro organismo, produciendo queratina, sudor, sebo y melanina, control de calor y como protección^{25,26}.

Martínez²⁷ considera a la piel como órgano que cumple la función principal de protección y que es capaz de cubrir todo el cuerpo. A su vez afirma que en un adulto la extensión de su piel mide aproximadamente 2m^2 y tienen un peso que está entre 4 y 5 Kg.

b) Estructura:

La piel tiene una estructura compleja, está constituida por tres capas bien diferenciadas²⁸:

b.1) Epidermis:

Esta capa se encuentra en la parte externa, y está conformado por un epitelio estratificado y queratinizado, ya que es la primera barrera de protección ante los daños exteriores. Su grosor varía mucho, desde 0,1 (párpados) hasta 1,5 milímetros (plantas de los pies). Está normalmente compuesta por cuatro sub-capas diferentes^{2,25}:

- Capa basal.
- Capa de células espinosas.
- Capa granular.
- Capa córnea.

Son aquellos lugares donde la piel presenta mayor grosor, la epidermis cuenta con 5 capas bien definidas²⁷.

Las cuatro capas de la epidermis serán descritas a continuación:

- **Estrato Basal:** Está formado por una secuencia de células poligonales, cúbicas o un tanto cilíndrica. Estas células pueden dividirse^{2,27}.
- **Estrato Espinoso:** Constituido por 5 a 10 capas constituidas por células en forma poligonales, pero que inicialmente su forma fue cúbica, va cambiando a una forma más plana a la vez que subimos los estratos. Los queratinocitos están unidos por muchos desmosomas; estos le confieren el aspecto de tener espinas en su superficie^{25,27}.
- **Estrato Granular:** Constituido por entre 2 y 5 capas con una forma de células achatadas, cuya característica principal es que se acumula en el citoplasma de forma irregular^{25,28}.
- **Estrato Lúcido:** se encuentra presente en las partes más gruesas tales como palmas de manos o plantas de pies. Presenta escasas cantidades de células planas y de coloración blanquecina^{5,27}.
- **Estrato Córneo:** son muy variables en cuanto a su grosor y número de capas de células, esto dependerá de la zona. La membrana celular tiene mayor grosor y la cubre por glucolípidos en su parte interna²⁹.

La epidermis está formada por queratinocitos. Las queratinas son macromoléculas y tienen la propiedad de insolubilidad en agua y es resistente a cambios en el pH^{27,29}:

- a) **Los melanocitos,** Representan el 10%²⁷
- b) **Las células de Langerhans,** Proviene de la médula ósea, forman parte del sistema inmunitario²⁹.
- c) **Las células de Merkel,** Tienen contacto con las neuronas sensoriales y pueden transmitir información del tacto²⁸.

b.2) Dermis

Es la parte interna, se encuentra en la parte inferior de la capa de epidermis. Presenta un grosor que varía de 1 a 2 milímetros, pero en caso del párpado es menor de 0.6 milímetros y en los pies, caso opuesto, puede medir hasta 3 milímetros²⁹.

b.3) Hipodermis

Esta capa acumula células que sirven como reserva de grasa, y está debajo de la dermis. Constituye una barrera de protección, generalmente protección térmica.^{27,28}

c) Funciones:

1. Protección o Barrera: La piel protege contra:

1.1. Agentes mecánicos: protección contra contusiones, fricciones, intentos de penetración de cuerpos extraños, etc. (epidermis)²⁷

1.2. Agentes físicos: Resistencia a la corriente eléctrica, evita la quemadura de los órganos internos, daño grave de los rayos ultravioletas^{27,28}.

1.3. Agentes químicos: evitar la deshidratación por la salida de agua (epidermis)²⁹.

1.4. Protección frente a agentes biológicos: la piel lucha y controla el ingreso de los microorganismos; pero sabemos que existe una flora bacteriana natural sobre la piel, éstas no nos causan daños²⁷.

2. Relación: Porque recibe estímulos externos²⁹.

3. Regulación corporal: Controla el equilibrio hidroelectrolítico, temperatura y volumen de sangre²⁹:

3.1. Temperatura corporal: Corrige las variaciones de temperatura internas o externas^{27,29}.

3.2. Equilibrio hídrico y electrolítico: a través del sudor se pierde agua por los poros presentes en la piel²⁹.

3.3. Volumen de sangre circulante: puede llegar hasta el 10 % del volumen total de sangre²⁷.

4. Metabolismo: a continuación, se presenta las funciones metabólicas de la piel ²⁹:

4.1. Síntesis de Vitamina D: se deriva del colesterol con intervención de la radiación ultravioleta.

4.2. Función endocrina: la piel es como un receptor de muchas hormonas.

4.3. Función excretora: a través del sudor podemos excretar o eliminar sustancias tóxicas y desechos en pequeñas cantidades.

4.4 Función inmunológica: Es el primer órgano, en la mayoría de veces, que tiene contacto con los microorganismos invasores, esta característica es muy importante para el desarrollo el sistema inmunológico.

d) La distribución sanguínea en la piel

Nacen muchos vasos debajo de la epidermis, éstos forman una rama. Estos vasos quedan expuestos en caso de lesiones²⁷.

2.2.2 Heridas en la piel

a. Definición

Lesión o daño que se da en cualquier lugar del cuerpo. Las causas pueden ser desgarros, abrasiones, golpes, entre otros³⁰.

Pacheco³⁰ considera a la herida como discontinuidad de la piel. Nuestra piel tiene la capacidad de repararse a través del proceso de cicatrización.

b. Tipos de las Heridas

Los tipos más comunes de heridas son las siguientes: Heridas por armas de fuego, Raspaduras, excoriaciones o abrasiones, Heridas avulsivas, Heridas contusas, Amputación, Aplastamiento, Heridas cortantes o incisivas, punzantes y laceradas^{27,31}.

2.2.3 Cicatrización

a) Definición

Proceso de restauración de la integridad física de la piel con la formación de tejido fibroconectivo³⁰.

Es una respuesta fisiológica de la piel, que ante cualquier daño active el proceso de cicatrización que se lleva en todo órgano y sistema³².

b) Proceso de cicatrización

b.1. Fase inflamatoria.

Consiste en la activación de membranas basales y endoteliales, también el sistema de quininas, esta última permite la liberación de factores vasoconstrictores arteriales, además liberan prostaglandinas que producen vasodilatación. Se caracteriza por aumento de la temperatura, aumento de la permeabilidad de la piel e incremento de glóbulos blancos^{27,30}.

b.2. Fase de fibroplasia (migración o proliferación).

Aquí se destaca por la aparición de fibroblastos, encargados de la formación de tejido granular, sustancias compuestas de colágeno. Además, se recanalizan los vasos linfáticos^{30,32}.

b.3. Fase de maduración.

Se caracteriza por el aumento de la fuerza tisular progresiva, luego ocurre remodelación del colágeno, esto permite disminuir del color de la cicatriz³².

Epitelización: Este proceso es estimulado para ser liberados por macrófagos y plaquetas³².

c) Factores de influyen en la cicatrización

Temperatura Local: Si es menor a 30°C estimula y mejora la irrigación sanguínea mejorando la cicatrización³⁰.

Infección de la Herida: Los microorganismos causan destrucción y daño de los tejidos retardando el proceso de cicatrización³³.

Malnutrición: Personas malnutridas tienen dificultad y un aumento en el tiempo de cicatrización, mayormente en los de baja ingesta de proteínas³⁰.

Edad: En sujetos jóvenes, el proceso de cicatrización es más rápida³⁴.

2.2.4. Gel

a) Definición

Es una preparación semisólida que está formada por un gelificador, es una preparación que contiene principios activos y aditivos, la parte sólida se une al líquido que puede ser agua, alcohol o aceite de tal manera que se forma una red de partículas atrapadas en la fase líquida. La característica común es la presencia de un tipo de estructura continua que les proporciona las propiedades de los semisólidos^{5,35}.

b) Clasificación

b.1) Comportamiento frente al agua

- **Geles lipófilos:** Son preparados que presentan generalmente parafina líquida con polietileno o por aceites grasos gelificados³⁵.
- **Geles hidrófilos:** Son preparados elaborados generalmente a partir de agua, glicerol y propilenglicol gelificado con la ayuda de agentes gelificantes³⁶.

b.2) Por su Viscosidad

- Geles fluidos
- Geles semisólidos
- Geles sólidos³⁶

c) Estabilidad

- Temperatura
- Cambios de pH
- Agitación violenta
- Electrolitos

Los geles con el tiempo pierden su condición de tal y su estructura puede llegar a romperse. La estabilidad de un gel depende de su correcta formulación³⁶.

d) Ventajas

- Presenta sensación de frescura.
- Es fácil de lavar
- Son tolerados por diferentes tipos de piel³⁷.

e) Desventajas

- Es incompatible con varios principios activos
- Tiende a desecarse³⁷.

f) Características de un gel

- Presenta una consistencia semisólida o fluida.
- Puede tener un aspecto transparente o turbio.
- Su estructura puede ser de tipo continua.
- Tiene un comportamiento pseudoplástico.
- El pH oscila entre 4,5 y 8³⁸.

g) Mecanismo de elaboración de un gel

Los polímeros que forman un gel dependiente del pH del medio producen soluciones ácidas que cuando son neutralizadas, éstas incrementan su viscosidad y elimina la turbidez de su medio. El mecanismo de formación del gel se da a bajo pH, ya que se disocia una pequeña cantidad de grupos carboxílicos del polímero, formando un espiral flexible³⁷.

h) Los módulos a considerar en la formulación de un gel son³⁷:

- Líquido a gelificar
- Polímero gelificante
- Base neutralizante o acidificante en el caso que la gelificación dependa del pH

Fórmula patrón:

- En general se ajusta a:
 - Principio activo x%
 - Gelificante/s x%
 - Regulador de pH (si procede) c.s.
 - Diluyente c.s.p.

2.2.5. Liofilización

Parzanese³⁹ refiere que esta técnica se basa en la desecación por medio de la sublimación del agua contenida, se realiza congelando la planta medicinal y se remueve el hielo aplicando calor en condiciones de vacío, de esta forma el hielo sublima evitando el paso por la fase líquida. Todas las plantas medicinales que contengan sustancias volátiles o termosensibles no se ven afectadas por este proceso, ya que se trabaja a temperaturas y presiones reducidas. Lo resaltante del método es que no altera la estructura fisicoquímica del producto y admite su conservación sin cadena de frío, ya que su bajo porcentaje de humedad permite obtener un producto con elevada estabilidad microbiológica.

La liofilización es llamada también criodesecación, es un proceso de secado que se basa en sublimar el hielo de un producto congelado. El agua del producto pasa, por tanto, directamente de estado sólido a vapor sin pasar por el estado líquido, para lo cual se debe trabajar por debajo del punto triple del agua, 0.01°C y 4.5mmHg⁴⁰.

Ventajas de la liofilización

- Mantiene la estructura y el aspecto original de la planta medicinal.
- La baja temperatura del proceso impide cualquier alteración termolábil.
- Al sublimarse el hielo quedan poros que permiten una reconstitución rápida.
- Inhibe el deterioro del color y sabor por reacciones químicas y las pérdidas de propiedades fisiológicas
- La humedad residual es baja
- El tiempo de conservación es largo.
- La retención de los aromas es muy alta⁴⁰.

2.2.6. Planta medicinal en Estudio

a) Familia: *Solanaceae*.

Presenta un tamaño aproximado de 1 - 3 m. de alto. Tallo glabro, sus hojas están distribuidas de forma alterna; presenta pecíolo de tamaño entre 6 - 18 mm de largo, el limbo aovado-oblongo. Presenta bordes enteros, ápice agudo, atenuado o asimétrico en la base. Flores sésiles o escasamente pediceladas⁴¹.

b) Género: *Cestrum L.*

Cestrum L. pertenece a la familia Solanaceae, considerado como arbustos, se encuentran en climas, tropicales y fríos, en los países como Perú, México y Brasil. *Cestrum* es uno de los géneros que mayor cantidad de especies presenta⁴².

c) Especie: *Cestrum auriculatum Ruiz & Pav.*

- **Nombre común o vulgar:** “Hierba santa” “qapiaq ruki” “hierba hedionda”^{11,42}.

- **Distribución geográfica:**

La especie es nativa del Perú. Y se encuentra entre 500 a 3500 metros sobre el nivel del mar. Se encuentra de forma natural en la sierra, departamentos como Ancash, Arequipa, Cajamarca, Cuzco, entre otros^{11,16}.

- **Hábitat:**

Puede crecer al borde de los ríos, de los caminos, en las quebradas y en el contorno por donde pasa el agua de los terrenos de cultivo¹¹.

- **Uso medicinal:**

La forma de utilizarlo es estrujando las hojas hasta sacar gran cantidad de espumas, en agua tibia, luego que el agua se colorea verde y esta espumosa realizar los baños y lavados. Para fiebres internas, contra la caspa del cuero cabelludo, en casos de sarampión y lavados de heridas; en cocimiento como sudorífico en los resfriados y en forma de enema en los cólicos^{11,17,19}.

d) Taxonomía⁴³ (Anexo N°01)

Reino *Plantae*

Phylum *Magnoliophyta*

Clase *Magnoliopsida*

Orden *Solanales*

Familia *Solanaceae*

Género *Cestrum*

Epíteto específico *auriculatum*

Autor Ruiz & Pav.

III. HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis Nula (Ho):

El gel a base del extracto liofilizado de hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% no presentan efecto cicatrizante.

3.2 Hipótesis Alternativa (Hi):

El gel a base del extracto liofilizado de hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% presentan efecto cicatrizante.

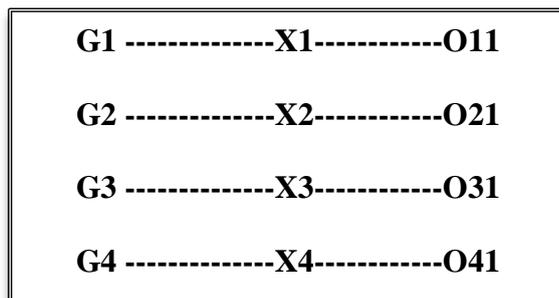
IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

4.1.1. Tipo de investigación

La investigación corresponde a un estudio de enfoque cuantitativo, de tipo básico, con un nivel explicativo, de diseño experimental (grupos: blanco, patrón, experimental I y II).

4.1.2. Diseño de la investigación



Donde:

G1: Es el Grupo blanco.

G2: Es el Grupo patrón.

G3: Es el Grupo experimental I.

G3: Es el Grupo experimental II.

X1: Sin tratamiento.

X2: Tratamiento con Pantenol al 5% en gel.

X3: Tratamiento con gel al 2% a base del extracto liofilizado de hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba santa).

X4: Tratamiento con gel al 4% a base del extracto liofilizado de hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba santa).

O11: Observaciones del proceso de cicatrización de la lesión inducida por corte en el lomo de *Rattus rattus var. albinus* del grupo blanco.

O21: Observaciones del proceso de cicatrización de la lesión inducida por corte en el lomo de *Rattus rattus var. albinus* del grupo patrón.

O31: Observaciones del proceso de cicatrización de la lesión inducida por corte en el lomo de *Rattus rattus var. albinus* del grupo experimental I.

O41: Observaciones del proceso de cicatrización de la lesión inducida por corte en el lomo de *Rattus rattus var. albinus* del grupo experimental II.

4.2. Población y muestra

4.2.1. Material Vegetal:

Población vegetal

Constituida por la especie vegetal *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba santa) recolectada en del pueblo de Vicos, distrito de Marcará, provincia de Carhuaz, departamento de Ancash.

Muestra vegetal

Constituida por las hojas (1 Kg) de la especie vegetal *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba santa) recolectada en del pueblo de Vicos, distrito de Marcará, provincia de Carhuaz, departamento de Ancash a 3100 m.s.n.m.

Criterios de inclusión: Hojas en buen estado vegetativo del *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba santa).

4.2.2. Material biológica

Población animal:

Conjunto de ratas entre hembras y machos, obtenidas del Bioterio de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

Muestra animal: Constituida por 16 ratas (hembras y machos) distribuidas en 4 grupos. Los animales fueron mantenidos en condiciones normales de temperatura (25°C) e iluminación con libre acceso a agua y ración (Bioterio ULADECH).

4.3. Definición y operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Dependiente: Efecto cicatrizante	Es una serie de eventos bioquímicos complejos se presenta para reparar el tejido dañado, consta de etapas como: Etapa Hemostasia, inflamatoria, proliferativa y remodelación o maduración.	Identificación de Metabolitos secundarios	<ul style="list-style-type: none"> – Fenoles y Tanino: Tricloruro férrico. – Flavonoides: Shinoda, Ácido Sulfúrico y Hidroxido de Sodio. – Azúcares reductores: Fehling y Molish. – Triterpenos y esteroides: Lieberman-Burchard y Tricloruro férrico. – Alcaloides: Dragendorff, Mayer y Keller – Leucoantocianidinas: Rosenheim – Saponinas: Prueba de espuma
		Parámetros del proceso de cicatrización	Enrojecimiento y Aumento de temperatura (EA) Formación de Costra Completa (Fcc), Caída de Costra Completa (Ccc) y Cicatrización Completa (Zc)
		Tiempo promedio de cicatrización.	– En días.
		Reducción del tiempo promedio de cicatrización	– (%) de tiempo en días.

<p>Independiente: Gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i>. Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2 y 4%</p>	<p>El gel es una preparación semisólida que forma una red de partículas atrapadas en la fase líquida.</p> <p>Extracto liofilizado es método de desecación en el que se elimina el agua por congelación del producto húmedo y posterior sublimación del hielo en condiciones de vacío. Al suministrar calor el hielo sublima y se evita el paso por la fase líquida.</p>	<p>Elaboración del Gel al 2 y 4%</p>	<p>– Características Físico-Químicas: <i>Color, Olor, Aspecto, Presencia de grumos, Extensibilidad y Ph</i></p>
			<ul style="list-style-type: none"> – Grupo Blanco: Sin tratamiento. – Grupo patrón: Pantenol al 5% (Cantidad suficiente para cubrir la herida, administrado una vez por día). – Grupo Experimental I: Gel al 2% a base del extracto liofilizado de las hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Cantidad suficiente para cubrir la herida, administrado una vez al día). – Grupo Experimental II: Gel al 4% a base del extracto liofilizado de las hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Cantidad suficiente para cubrir la herida, administrado una vez al día)

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Recolección

Las hojas de la especie vegetal fueron recolectadas en el pueblo de Vicos, distrito de Marcará, provincia de Carhuaz, departamento de Ancash a 3100 m.s.n.m en el mes de setiembre del 2018. La muestra recolectada se envolvió con papel kraff para su traslado.

Selección

Se seleccionó las hojas en su adecuado estado de madurez, que estén libres de daño a causa de los insectos, de hongos (la parte media del arbusto) y de manipularlo con mayor suavidad garantizando de esta manera mejor calidad y menor daño.

Limpieza y desinfección

Una vez obtenida la planta se procedió a lavar y desinfectar con una solución de 5ml de hipoclorito de sodio por litro de agua (0.5%).

Se utilizó agua clorada porque son de fácil adquisición, económica y es un buen desinfectante.

Secado

Él secado se realizó en sombra a temperatura ambiente, posteriormente se llevó a calor artificial, en la estufa (Binder FD115) a 40°-50°C de temperatura, para no alterar los metabolitos presentes en las hojas.

El secado ayuda a prevenir la acción de las enzimas, de las bacterias, los hongos. Permite también una fácil molienda y transporte⁴⁴.

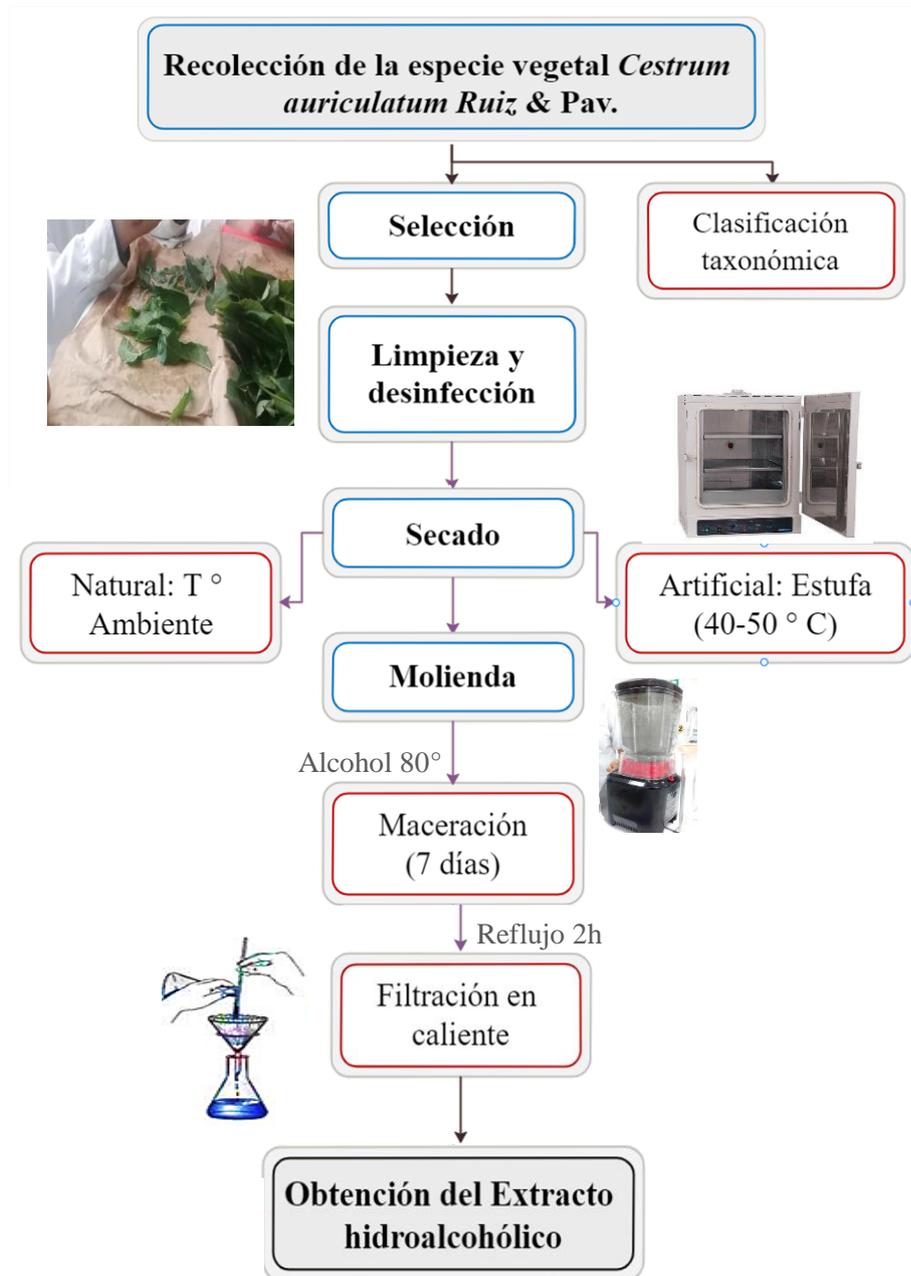
Molienda

Se pulverizó la muestra con un triturador (Oster) obteniéndose un polvo fino, con el objetivo de facilitar la extracción de los constituyentes deseados que se encuentre dentro de muestra en investigación

Obtención del extracto hidroalcohólico

Se pesaron 100 g. del polvo seco, después se humectó con 30 ml de Etanol 80° e inmediatamente se agregó el resto del solvente (220 mL de Etanol 80°) y se maceró en un frasco ámbar por 7 días con agitación periódica para optimizar la extracción de los metabolitos secundarios, luego se llevó a reflujo por 2 horas y posteriormente se filtró aún caliente con papel filtro (**Anexo n° 10**).

Esquema n° 01 Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav.



Fuente: Datos obtenido por el autor

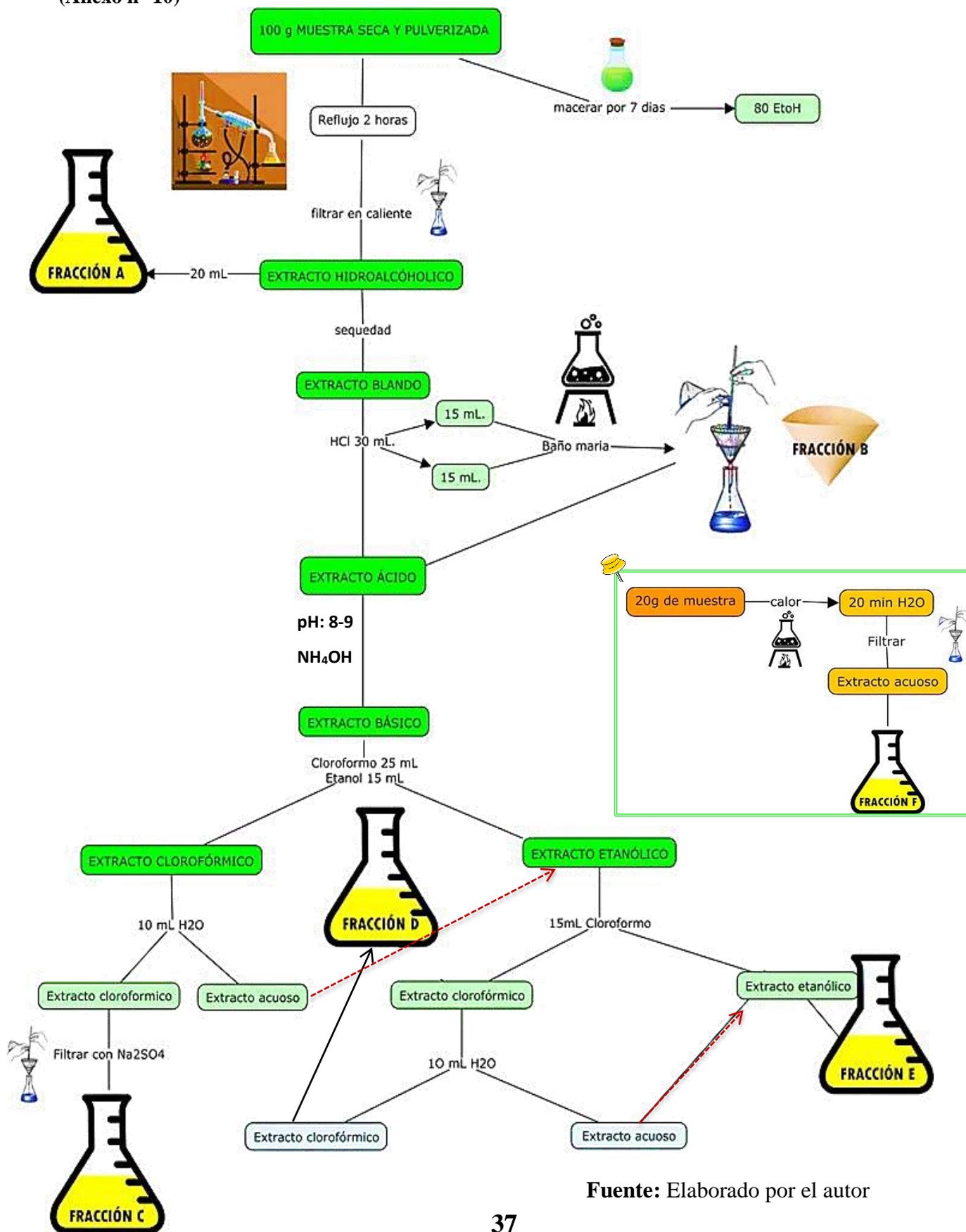
Realizado en los laboratorios de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote) (**Anexo N° 10**)

4.4.1 Marcha Fitoquímica

La marcha fitoquímica es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta, a partir de ahí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos.⁴⁴.

La marcha fitoquímica se basa en el método descrito por Lock⁴⁵ y adaptado en el Laboratorio de Química de la escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote (ULADECH), siendo de más fácil ejecución. Después de obtener el extracto hidroalcohólico (Fracción A), se llevó al equipo rotaevaporador (sequedad) por 2 horas (BUCHI R210), luego se realizó un fraccionamiento, resultando 4 fracciones más (B a E), en estas fracciones obtenidas se realizó la aplicación de pruebas de coloración y precipitación. En la fracción F (extracto acuoso) se realizó paralelo a las demás fracciones (**Cuadro N° 01**) (**Anexo n° 02**).

Esquema n° 02 Obtención de Fracciones (A - F) necesarias para el estudio fitoquímica de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. basado en Lock⁴⁵ (Modificado y adaptado por el laboratorio de la ULADECH) (Anexo n° 10)



Fuente: Elaborado por el autor

Cuadro N° 01. Los principales reactivos/reacciones para identificar metabolitos secundarios

Reactivo	Composición	Metabolito identificado
Tricloruro Férrico	FeCl ₄	Fenoles y Tanino
Shinoda	HCl + Mg (partículas)	
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄	Flavonoides
Hidróxido de Sodio	NaOH 30%	
	Fehling A: CuSO ₄ + H ₂ O	
Fehling	Fehling B: Tartrato de Na y K + NaOH + H ₂ O	Azúcares reductores
Molish	α-naftol y H ₂ SO ₄	
Lieberman- Burchard	Anhídrido acético + ácido acético + ácido sulfúrico	Triterpenos y esteroides
Tricloruro acético	C ₂ HCl ₃ O ₂	
Dragendorff	Nitrato de bismuto pentahidratado + Ácido nítrico 30% + KI	Alcaloides
Mayer	HgCl + KI	
Keller	HF + HCl + HNO ₃	
Prueba de espuma		Saponinas

Fuente: Información. Basado en Lock⁴⁵ (Modificado y adaptado por el laboratorio de la ULADECH)

4.4.2. Obtención del Extracto liofilizado

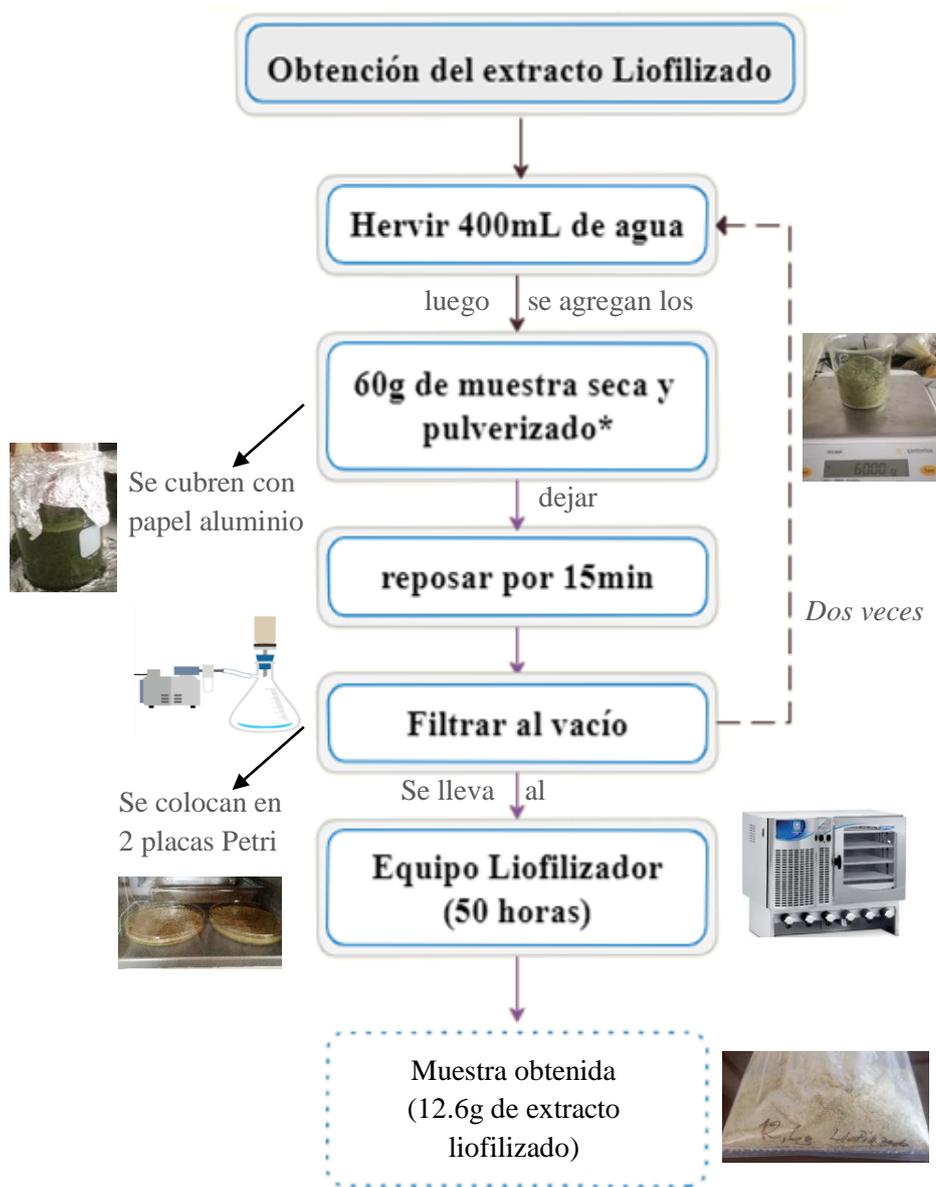
Se hirvió 300mL de agua hasta ebullición, luego se pesó 60g de muestra seca y pulverizada del *Cestrum auriculatum* Ruiz. & Pav. Seguidamente se agregó la muestra pesada al vaso de precipitación que contiene el agua caliente; se tapó el vaso de precipitación con papel aluminio y se dejó reposar por 15 minutos.

Se filtró el contenido al vacío utilizando papel filtro, luego se volvió a hervir 400mL de agua hasta ebullición; se retira de la cocina y se agrega el residuo sólido que quedó en el papel filtro, seguidamente se filtró nuevamente al vacío. Se obtuvo un contenido aproximado de 450 mL de muestra filtrada.

El contenido filtrado se colocó en dos placas Petri de 250 mL y se llevó al equipo Liofilizador (FreeZone Triad- LABCONCO) por 50 horas. Se obtuvo 12.5g de extracto liofilizado (**Anexo n° 11**).

Todo el proceso se llevó a cabo en los laboratorios de la facultad de ciencias de la ULADECH.

Esquema n° 03 Obtención del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Anexo N° 11)



Fuente: Elaborado por el autor

** Se realizan 2 filtrados, solo en la primera se agrega 60g de muestra, en la segunda se trabaja con los restos sólidos (papel de filtro) de la primera filtración.*

4.4.3. Elaboración del Gel

Para la preparación del gel al 2% y 4% a base las del extracto liofilizado de las hojas del *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. se utilizó gel base proporcionada por el laboratorio de la universidad (ULADECH).

Preparación del gel al 2%:

Para el gel al 2%:

2g extracto liofilizado ----- 100g de gel base

Xg extracto liofilizado----- 50g de gel base

Xg extracto liofilizado= 1g

Se pesó 1g de extracto liofilizada de *Cestrum auriculatum* Ruiz. & Pav. en un vaso de precipitación, luego agregamos gel base hasta completar 50g del peso total. Luego se agito constantemente hasta conseguir la consistencia deseada, posteriormente se envasó y rotuló (**Anexo n° 12**).

Preparación del gel al 4%:

Para el gel al 4%:

4g extracto liofilizado ----- 100g de gel base

Xg extracto liofilizado----- 50g de gel base

Xg extracto liofilizado= 2g

Se pesó 2g de muestra liofilizada de *Cestrum auriculatum Ruiz. & Pav.* en un vaso de precipitación, luego agregamos gel base hasta completar 50g del peso total. Luego se agito constantemente hasta conseguir la consistencia deseada, posteriormente se envasó y rotuló (**Anexo n° 12**).

4.4.4. Determinación de las características Físico-Químicas

Color:

- En una lámina de reloj limpio y seco se llenó aproximadamente 3 g del gel y se observó el color.

Olor:

- Se preparó una tira de papel y se introdujo en el gel, se procedió a registrar el olor.

Aspecto:

- Se tomó una pequeña cantidad del gel con los dedos y se aplicó suavemente en el dorso de la mano y se observó si es homogéneo, deslizable y untuoso.

Presencia de grumos:

- Se tomó una pequeña cantidad del gel con los dedos y se aplicó suavemente en el dorso de la mano y se observó si hay presencia o ausencia de grumos.

Extensibilidad:

- Se pesó 0.13 a 0.15g de gel, se presiona entre dos superficies de vidrio sobre las cuales se adiciona una pesa de 100g durante 1 minuto. El diámetro originado es la variable respuesta.

pH:

- Se utilizó el Peachímetro:
- Se agregó gel a un vaso de precipitación.
- Se retiró el electrodo del tampón, se lavó con agua destilada.
- Se introdujo el electrodo limpio homogenizar y se registró el valor indicado en el peachímetro^{38,46} (**Anexo n° 13**).

4.4.5. Evaluación del efecto cicatrizante

La técnica a utilizar “lesión inducida por incisión (corte)” fue propuesta por González-Quevedo Rodríguez, el cual consiste en realizar de un incisión (corte) en la región dorsal (lomo) del ratón⁴⁷; se agruparon en 4 grupos (4 ratas por cada grupo), el Grupo Blanco (ninguna administración), el Grupo Patrón (administración del Pantenol al 5%), el Grupo Experimental I (administración del gel al 2% del *Cestrum auriculatum*) y Grupo Experimental II (administración del gel al 4% del *Cestrum auriculatum*).

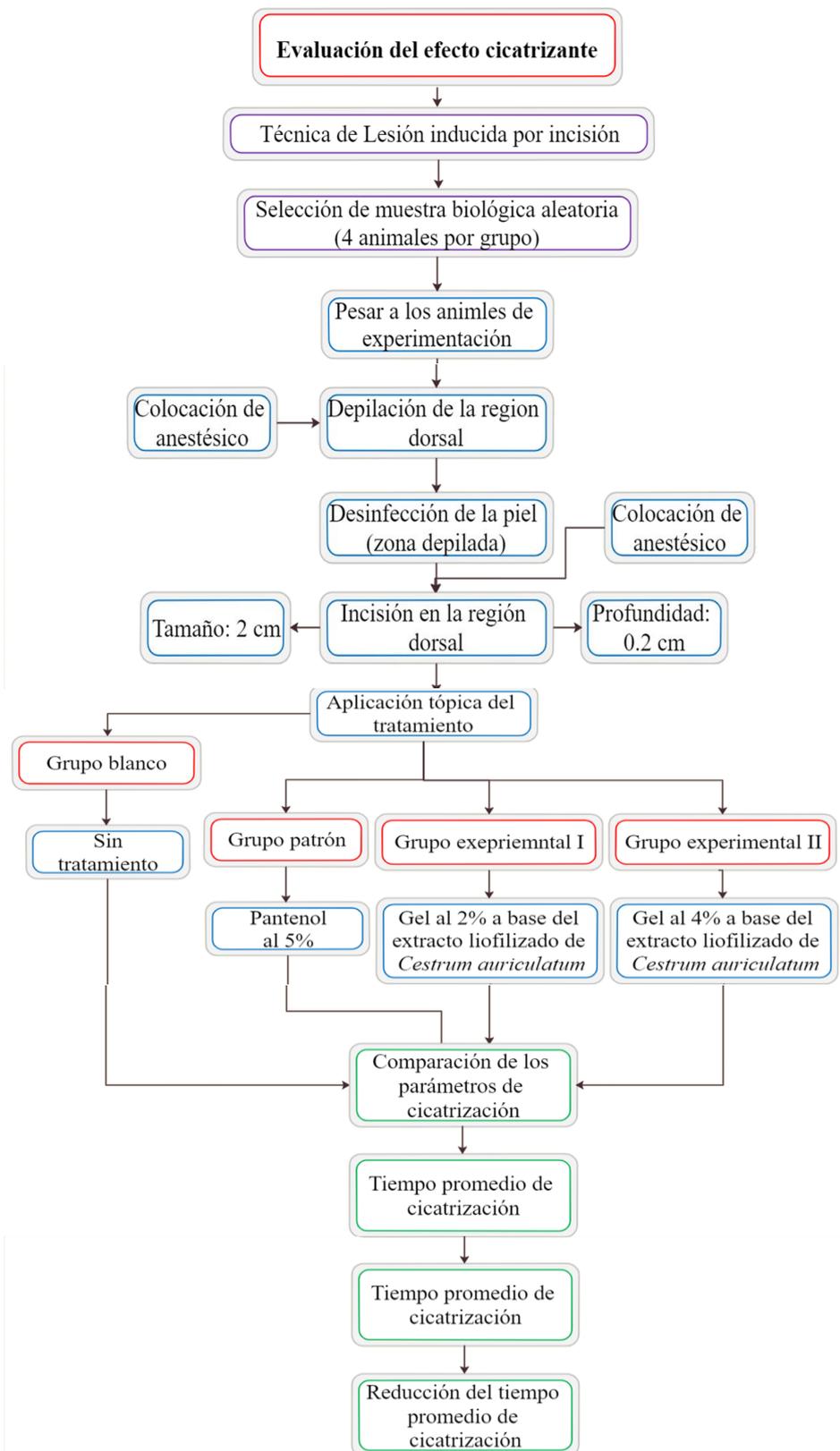
En primer lugar, se pesaron los animales de experimentación, los pesos variaron entre 220g a 320g; luego se identificaron con la designación de números ordinarios en las colas, posteriormente se anestesió con midazolam de 5mg/5ml a cada animal para luego depilarlos con cuchilla de afeitar Gillette, después de 24 horas se procedió a realizar un incisión (corte) con bisturí (Level) en la región dorsal (lomo) de los animales de experimentación, con un tamaño de 2 cm y profundidad 0.2cm, previa desinfección de la zona y manteniendo la asepsia correspondiente, cabe mencionar que

previo al corte de volvió a anestésiar a los animales de experimentación. (**Anexo n° 14**).

Una vez efectuado el corte se procedió a la aplicación por vía tópica al grupo patrón, el Pantenol 5%, al grupo experimental I, gel al 2%, al grupo experimental II, gel al 4%. La frecuencia de aplicación fue una vez por día y se aplicó la cantidad suficiente para cubrir la herida. La duración del proceso de cicatrización fue de 13 días, sin incluir la depilación; tomando como referencia el tiempo máximo de cicatrización del grupo blanco (Sin tratamiento).

A los 8 a 10 minutos después del corte, se pudo observar coagulación y hemostasia en la totalidad de las ratas de los 4 grupos. Luego de las 24 horas aproximadamente después del corte se observó enrojecimiento y aumento de temperatura en la zona lesionada, los días posteriores se siguió evaluando los demás parámetros de cicatrización de cada grupo como el tiempo de Formación de la costra completa, Caída de la costra completa y la cicatrización completa corroborada por la observación diaria del color uniforme del área en el que se realizó el corte y otras características propias del proceso de cicatrización, además de determinó el tiempo promedio de cicatrización y la reducción de dicho tiempo. (**Anexo n° 14**).

Esquema n° 04 Evaluación del efecto cicatrizante del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Anexo n° 14)



Fuente: Elaborado por el autor

4.5. Plan de análisis

El análisis se presentó a través de tablas y gráficos, los cuales fueron trabajados con Microsoft Excel, se obtuvieron los datos el promedio y desviación estándar.

Se utilizó el análisis de Varianza para evidenciar el grado de dispersión de los datos; se tuvo en cuenta una significancia estadística de $\alpha=0.05$ el cuál se trabajó con el programa Microsoft Excel. A su vez se utilizó la prueba de Tukey para realizar la comparación múltiple de los grupos de tratamiento, con un nivel de confianza del 95%, se trabajó con el programa Minitab 19.

4.6. Matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos:	Hipótesis	Variables	Tipo de investigación	Diseño de investigación	Población y muestra	Metodología
<p>Evaluación del efecto cicatrizante del gel a base del extracto liofilizado a base de hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa), a diferentes concentraciones en <i>Rattus rattus var. albinus</i>.</p>	<p>¿Presenta efecto cicatrizante el gel elaborado a base del extracto liofilizado de Hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) a diferentes concentraciones (2% y 4%)?</p>	<p>Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar el efecto cicatrizante del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) a diferentes concentraciones en <i>Rattus rattus var. albinus</i>. <p>Objetivos específicos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Identificar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcolico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa). 2. Determinar las características Físico-químicos del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa), al 2% y 4% 3. Comparar los parámetros de Enrojecimiento y Aumento de temperatura (EA), Formación de Costra Completa (Fcc), Caída de 	<p>Hipótesis Nula:</p> <p>El gel a base del extracto liofilizado de hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% no presentan efecto cicatrizante.</p> <p>Hipótesis Alternativa:</p> <p>El gel a base del extracto liofilizado de hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% presentan</p>	<p>Variable independiente</p> <p>1: Gel a base del Extracto liofilizado de hojas del <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav al 2% y 4%</p> <p>variable dependiente:</p> <p>Efecto cicatrizante</p>	<p>Estudio de tipo experimental</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1)Elaboración del extracto hidroalcohólico 2)Identificación de metabolitos secundarios 3)Elaboración del extracto liofilizado 4) Elaboración del Gel a concentraciones del 2% y 4% 5)Determinación de las características del gel al 2% y 4% 6)Evaluar el efecto cicatrizante del gel al 2% y 4%: -Comparación 	<p>Población vegetal:</p> <p>Constituido por el <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba santa)</p> <p>Muestra vegetal:</p> <p>Constituida por las hojas (1 Kg) de la especie vegetal <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba santa).</p> <p>Población animal:</p> <p>Conjunto de ratas entre hembras y machos, obtenidas del</p>	<p>Se aplicó el método “lesión inducida por corte en ratas”, cuyo fundamento consiste en la realización de un corte con la utilización de un bisturí en el lomo de la rata, la cual se depiló previamente.</p> <p>Luego de las 24 horas se procedió a la aplicación tópica de la sustancia a evaluar, con el fin de evaluar el</p>

		<p>Costra Completa (Ccc) y Cicatrización Completa (Zc), en <i>Rattus rattus</i> var. <i>albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento en función del tiempo (días).</p> <p>4. Determinar el tiempo promedio de cicatrización en <i>Rattus rattus</i> var. <i>albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.</p> <p>5. Determinar el porcentaje de reducción del tiempo promedio de cicatrización en <i>Rattus rattus</i> var. <i>albinus</i> por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.</p>	efecto cicatrizante.			<p>los Parámetros de cicatrización</p> <ul style="list-style-type: none"> - Determinación del tiempo promedio de cicatrización -Determinación del porcentaje de reducción el tiempo promedio de cicatrización 	<p>Bioterio de la ULADECH.</p> <p>Muestra animal:</p> <p>Constituida por 16 ratas distribuidas en 4 grupos. Los animales fueron mantenidos en condiciones normales de temperatura (25°C) e iluminación con libre acceso a agua y ración.</p>	efecto cicatrizante.
--	--	--	----------------------	--	--	---	---	----------------------

4.7. Principios éticos

Se promovió la recuperación del pensamiento sobre el uso de las plantas medicinales, porque es una responsabilidad preservar estas plantas por su importancia medicinal y para que nuestras futuras generaciones puedan disfrutar de todos sus beneficios. Así también el uso de animales en este proyecto de investigación seguirá normas vigentes que protegen la vida y el bienestar de los animales utilizados en investigaciones.

En el artículo 19 del capítulo V de la Ley N° 30407 "Ley de protección y bienestar animal" menciona que "Todo experimento, investigación y docencia con animales solo puede tener lugar en centros de educación superior y centros especializados públicos y privados que cuentan con comités de ética de bienestar animal únicamente cuando los resultados de estas actividades no puedan obtenerse mediante otros métodos que no incluyan animales y garanticen la mayor protección contra el dolor físico⁴⁸.

El Comité Institucional de Ética en la Investigación (CIEI) tiene como finalidad proteger a las personas, animales, plantas o información que serán objeto de estudio en un proyecto de investigación, asegurando que, los proyectos se ciñan a los principios éticos y buenas prácticas establecidas en el presente Código de Ética para la Investigación. Las investigaciones que involucran el medio ambiente, plantas y animales, deben tomar medidas para evitar daños. Las investigaciones deben respetar la dignidad de los animales y el cuidado del medio ambiente incluido las plantas, por encima de los fines científicos; para ello, deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y maximizar los beneficios⁴⁹.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1. Principales metabolitos del extracto hidroalcolico de las hojas del *Cestrum auriculatum Ruiz & Pav.* (Hierba Santa)

Metabolito	Reacción	Fracción	Resultado	Coloración/Precipitado
Taninos	Tricloruro férrico	D	+++	Verde
		A	+++	Rojizo
Flavonoides	Shinoda	E	+++	Magenta
		A	+	Amarillo
	Ácido Sulfúrico	E	+++	Naranja
		A	+	Amarillo
	Hidróxido de Sodio 3%	D	++	Naranja
		E	+++	Amarillo
Azúcares reductores	Fehling	A	++	Rojo ladrillo
		E	++	Rojo ladrillo
	Molish	A	+	Precipitado violáceo
Alcaloides	Dragendorff	C	+	Rojo Naranja
		C	+	Precipitado blanco lechoso
	Keller	C	+++	Azul intenso
		D	+++	Azul intenso
		E	+++	Rojo
Triterpenos y Esteroides	Lieberman-Burchard	A	+++	Rojo oscuro
		C	+	Rojizo
		D	+++	Rojo
		C	+++	Rojo oscuro
Saponinas	Espuma	F	+++	-

Fuente: Datos propios de la investigación

LEYENDA:

(+++) Presente en abundante cantidad,

(++) Presente en mediana cantidad,

(+) Presente en poca cantidad (**Anexo N° 02**)

Tabla 2. Características Fisico-químicas del gel elaborado a base del extracto liofilizado de hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4%.

Características Físico-Químicas	Gel elaborado a base del extracto liofilizado de hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Ruiz & Pav. (Hierba Santa)	
	Gel al 2%	Gel al 4%
Color	Verde petróleo	Marrón verdoso
Olor	Madera húmeda	Madera húmeda
Aspecto	Homogéneo, untuoso y deslizable.	Homogéneo, untuoso y deslizable.
Presencia de grumos	Ausente	Ausente
Extensibilidad (máx: 5cm)	3.2 cm	3.6 cm
Ph (4-7)	6.9	6.8
Peso	50 g	50g

Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla 3. Parámetro del proceso de cicatrización “Enrojecimiento y Aumento de temperatura (EA)” en *Rattus rattus var. albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento en función del tiempo (días).

Días de duración del Parámetro “Enrojecimiento y Aumento de temperatura”	GRUPOS (n = 4)							
	BLANCO		PATRÓN		EXPERIMENTAL I		EXPERIMENTAL II	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Día 1	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%
Día 2	3	75%	1	25%	0	0%	0	0%

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

n: número de repeticiones (ratas) asignadas a cada grupo.

Blanco: Sin tratamiento

Patrón: Tratamiento con Pantenol al 5%

Experimental I: Tratamiento con gel al 2% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

Experimental II: Tratamiento con gel al 4% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

Tabla 4. Parámetro del proceso de cicatrización “Formación de Costra Completa (Fcc)” en *Rattus rattus var. albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento en función del tiempo (días).

Días de duración del Parámetro “Formación de Costra Completa”	GRUPOS (n = 4)							
	BLANCO		PATRÓN		EXPERIMENTAL I		EXPERIMENTAL II	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Día 2	0	0%	0	0%	1	25%	1	25%
Día 3	0	0%	3	75%	4	100%	4	100%
Día 4	3	75%	4	100%	4	100%	4	100%
Día 5	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

n: número de repeticiones (ratas) asignadas a cada grupo.

Blanco: Sin tratamiento

Patrón: Tratamiento con Pantenol al 5%

Experimental I: Tratamiento con gel al 2% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

Experimental II: Tratamiento con gel al 4% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

Tabla 5. Parámetro del proceso de cicatrización “Caída de Costra Completa (Ccc)” en *Rattus rattus var. albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento en función del tiempo (días).

Días de duración del Parámetro “Caída de Costra Completa”	GRUPOS (n = 4)							
	BLANCO		PATRÓN:		EXPERIMENTAL I		EXPERIMENTAL II	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Día 6	0	0%	1	25%	3	50%	3	75%
Día 7	0	0%	2	50%	4	75%	4	100%
Día 8	0	0%	3	75%	4	75%	4	100%
Día 9	1	25%	4	100%	4	100%	4	100%
Día 10	2	50%	4	100%	4	100%	4	100%
Día 11	3	75%	4	100%	4	100%	4	100%
Día 12	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

n: número de repeticiones (ratas) asignadas a cada grupo.

Blanco: Sin tratamiento

Patrón: Tratamiento con Pantenol al 5%

Experimental I: Tratamiento con gel al 2% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

Experimental II: Tratamiento con gel al 4% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

Tabla 6. Parámetro del proceso de cicatrización “Cicatrización Completa (Zc)” en *Rattus rattus var. albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento en función del tiempo (días).

Días de duración del Parámetro “Cicatrización Completa”	GRUPOS (n = 4)							
	BLANCO		PATRÓN		EXPERIMENTAL I		EXPERIMENTAL II	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Día 7	0	0%	0	0%	0	25%	3	75%
Día 8	0	0%	1	25%	3	75%	4	100%
Día 9	0	0%	2	50%	4	75%	4	100%
Día 10	1	25%	4	100%	4	100%	4	100%
Día 11	1	25%	4	100%	4	100%	4	100%
Día 12	2	50%	4	100%	4	100%	4	100%
Día 13	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

n: número de repeticiones (ratas) asignadas a cada grupo..

Blanco: Sin tratamiento

Patrón: Tratamiento con Pantenol al 5%

Experimental I: Tratamiento con gel al 2% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

Experimental II: Tratamiento con gel al 4% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

Tabla 7. Tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus var. albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.

GRUPOS (n = 4)	Tiempo promedio de cicatrización (Días)
	Promedio ± DE
BLANCO	12 ± 1.2
PATRÓN	9 ± 0.8
EXPERIMENTAL I	8 ± 0.4
EXPERIMENTAL II	7 ± 0.4

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

n: número de repeticiones (ratas) asignadas a cada grupo.

Blanco: Sin tratamiento

Patrón: Tratamiento con Pantenol al 5%

Experimental I: Tratamiento con gel al 2% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

Experimental II: Tratamiento con gel al 4% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

DE: Desviación estándar (±)

Tabla 8. Análisis de Varianza del tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus var. albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F_o	Probabilidad (p)	F_c
Entre grupos	50.188	3	16.729	19.585	0.00007	3.490
Dentro de los grupos	10.250	12	0.854			
TOTAL	60.438	15			p < 0,05	

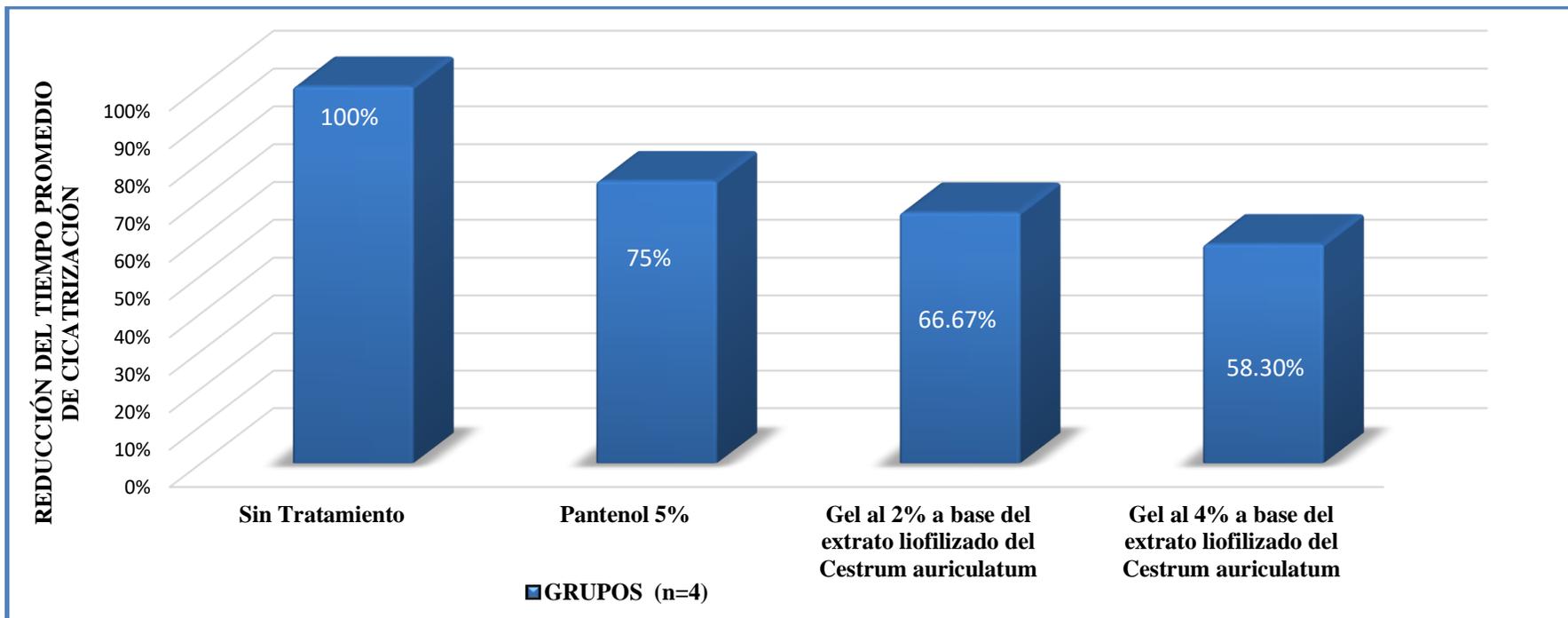
Fuente: Elaboración mediante el análisis de varianza ANOVA.

Leyenda:

F_o= Factor observado

F_c= Valor crítico

p < 0,05: si hay diferencias significativas entre los grupos



Fuente: Datos propios de la investigación

Gráfico 1. Porcentaje de reducción del tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus var. albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.

Leyenda: n: número de repeticiones (ratas) asignadas a cada grupo.

5.2. Análisis de Resultado

En la *Tabla 1* se puede observar la marcha fitoquímica que se realizó al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa), donde se pudo identificar diferentes metabolitos, dentro de los más abundantes se encuentran los taninos, flavonoides, leucoantocianidinas, triterpenos y esteroides, alcaloides y saponinas.

Según Mejía y Rengifo¹⁵ evidenciaron la presencia de Taninos y saponinas en la especie *Cestrum auriculatum* (Hierba Santa). A su vez Alvarado¹⁴. identificó antraquinonas, azúcares reductores, flavonoides, saponinas, taninos y alcaloides. Mientras que Curinambe y Zelada¹⁷ encontraron Taninos, Saponinas y Flavonoides, de los cuales el último fue el más abundante. De esta manera se evidencia que las tres investigaciones concuerdan con los resultados obtenidos en la presente investigación. Destacando que los más abundantes son Taninos, Flavonoides y Saponinas.

Para la identificación de flavonoides, en la prueba de ácido sulfúrico obtuvimos coloración amarilla, indicando positivos para flavonoides, de tipo flavonas y flavonoles⁵⁰. Confirmando la presencia de estos tipos de flavonoides Cruz y Zapata¹⁶, en la especie *Cestrum auriculatum* L'Hér, donde obtuvieron como resultado flavonoides, y por las coloraciones obtenidas en cromatografía de capa fina suponen la presencia de tipos de flavonoides como flavonas, isoflavonas o flavonoles, a través de Cromatografía de capa fina, además presentó gran cantidad de taninos y terpenos.

Soriano *et al.*⁵¹ Afirman que los flavonoides intervienen en el proceso de cicatrización porque esos metabolitos evitan la liberación de prostaglandinas, histaminas, y a su vez evitan la migración de elementos formes como son los neutrófilos. Además, permite estabilizar la membrana celular capturando a los radicales libres presentes, de esta forma evita el daño celular y por el contrario activando el complejo sistema bioquímico para la regeneración del tejido, en la especie vegetal en estudio presentó flavonoides en gran cantidad, por tal motivo se le atribuye el efecto cicatrizante.

Huamán⁵² refiere que los taninos son importantes en la curación de heridas y en su proceso de cicatrización, porque detienen el sangrado y evitan el crecimiento de bacterias, ya que posee actividad astringente. Los taninos permiten que las proteínas de los tejidos expuestos al daño se precipiten, de esta forman una capa protectora antiséptica debajo de la cual se da la regeneración de tejido. La especie vegetal en estudio presenta gran cantidad de taninos, demostrando su efecto cicatrizante.

Por lo tanto se puede decir que estos metabolitos (Flavonoides y Taninos) encontrados en la marcha fitoquímica realizado al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) contribuyen en el efecto cicatrizante.

En la **Tabla 2** se puede observar las pruebas realizadas al gel de 2% y 4%, para determinar sus características físico-químicas, donde las características organolépticas son aceptables por tratarse de un producto natural, el color verde y sus variantes son característicos de la Hierba santa, la untuosidad es buena y ninguno de los geles presenta grumos en su formulación. La extensibilidad del gel se encuentra dentro de

los valores permitidos, ambos resultados son menores de 5 cm. Mientras que el pH de ambos geles es ligeramente ácidos, sus valores se encuentran entre 4 y 7, siendo estos valores semejantes a los de la piel⁴⁶.

En la **Tabla 3** Se observa el parámetro del proceso de cicatrización de Enrojecimiento y aumento de temperatura (EA), este proceso se caracteriza por el proceso inflamatorio y aparición de eritema, calor, tumor y dolor. En el primer día los cuatro grupos de investigación presentan enrojecimiento y aumento de la temperatura, mientras que en el segundo día en el Grupo blanco aún hay un 75% de ratas que presentan síntomas de inflamación, mientras que el Grupo patrón solo un 25%, y los Grupos experimentales I y II no presentan enrojecimiento y aumento de la temperatura, por lo tanto los últimos grupos presentan mejores resultados para este parámetros de cicatrización y demuestran que aceleran la recuperación de la lesión.

En la **Tabla 4** se observa el parámetro de Formación de Costra Completa (Fcc), donde en el día 2 solo los Grupos experimentales I y II presentan un 25% de ratas con formación de costra completa, en el día 3 el Grupo patrón presenta el 75%, mientras que los Grupos experimentales I y II presentaron el 100 %. El Grupo patrón logró el 100% el día 4, mientras que el Grupo blanco en el día 5.

En el presente parámetro del proceso de cicatrización se destaca la acción del gel al 2% (Grupo experimental I) y 4% (Grupo experimental II) sobre los demás grupos.

En la **Tabla 5** se observa el parámetro de Caída de Costra Completa (Ccc), en el que muestra que desde el día 6, Los Grupos patrón, Experimental I y II obtuvieron un 25%, 50% y 75% respectivamente de ratas con caída de costra completa, el día 7 solo el Grupo experimental II presento el 100%; mientras que en el día 9 los Grupos patrón y experimental I presentaron el 100% y el Grupo blanco solo el 25%. El Grupo blanco presentó el 100% en el día 12.

Se destaca la acción de los geles al 2% y 4% del *Cestrum auriculatum*, pero el gel al 4% demostró ser mejor según la Tabla 4, porque presenta una rápida formación completa de costra, mientras que el gel al 2% se asemeja con el Pantenol 5%, ya que ambos lograron la caída de costra completa al día 9. Cabe resaltar la notable diferencia de los Grupos patrón, experimental I y II con respecto al Grupo blanco.

En la **Tabla 6** se observa el proceso de Cicatrización Completa, la culminación del proceso de cicatrización. El día 7 los Grupos experimentales I y II presentaron un el 25% y 75% respectivamente de ratas con cicatrización completa, el día 8 solo el Grupo experimental II presentó una Cicatrización completa del 100% de ratas; el Grupo patrón y experimental I presentan el 100 % el 10mo día, mientras que el Grupo blanco logró el 100% en el día 13.

En la **Tabla 7** se observa el tiempo promedio del proceso de cicatrización, donde el grupo experimental II logra la cicatrización en 7 ± 0.4 días, el grupo experimental I en 8 ± 0.4 días, el grupo patrón en 9 ± 0.8 días, mientras que el grupo blanco en 12 ± 1.2 días (**Anexo n° 06**).

En definitiva, la cicatrización de la lesión no tratada (grupo blanco) es más prolongada (12 ± 1.2 días) que los grupos que recibieron tratamiento (grupo patrón, experimental I y II). A su vez, cabe mencionar que la lesión tratada con el gel al 4% (grupo experimental II) ha destacado sobre los demás grupos, tanto en los parámetros de cicatrización como el tiempo promedio de cicatrización; mientras que el gel al 2% (Grupo experimental I) presenta un efecto cicatrizante similar al Pantenol 5% (Grupo patrón), ya que en los parámetros de cicatrización presentan similitud y una mínima diferencia en el tiempo promedio de cicatrización.

El tiempo de cicatrización está estrechamente relacionado con los parámetros de cicatrización, ya que para medir el tiempo que demora en cicatrizar una herida se tiene que observar todo el proceso evidenciado a través de los parámetros de cicatrización, donde se tomara en cuenta el último parámetro (cicatrización completa) para determinar el tiempo total que demoró en cicatrizar la herida. Por lo tanto en la Tabla 7 se puede observar que el gel al 2 y 4% lograron la cicatrización en un tiempo promedio menor a los demás grupos, demostrando que presentan efecto cicatrizante. Estos resultados concuerdan con Saavedra²³ quién realizó un estudio de 27 plantas en la sierra central del país, y entre ellas describió a *Cestrum auriculatum*, a la cual se le atribuye múltiples propiedades medicinales, destacando entre ellas su uso en la curación de heridas, demostrando su potente efecto cicatrizante. Bussmann y Sharon¹⁹ también describen su uso en curación de heridas a través de lavado. En ambas investigaciones se evidencia la propiedad cicatrizante de la especie *Cestrum auriculatum*, el cual refuerza los resultados obtenidos en la presente investigación.

En la **Tabla 8** se trabajó con el análisis de varianza, ANOVA de un factor de interacción, donde la variable explicativa lo conforman los grupos de tratamiento como el blanco, patrón, experimental I y II; y la variable respuesta es el Tiempo promedio en días. Se muestra una probabilidad (p) de 0.00006 con un nivel de confianza de 95%; el cual es menor al valor significancia (0.05); además el F_o (19.586) es mayor que el F_c (3.490); por lo tanto en ambos casos se evidencia que existe una diferencia significativa ($p < 0.05$, $F_o > F_c$) entre las medias de los grupos de tratamiento en relación al tiempo promedio de cicatrización (**Anexo n° 07**).

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 8, se evidenció una diferencia significativa entre las medias de los grupos de tratamiento ($p = 0.00006$), por lo tanto se aplicó la prueba Tukey, ya que esta prueba solo se aplica cuando en el análisis ANOVA se determina diferencia significativa ($p = 0.05$); por lo que se procede a realizar una comparación múltiple, estadísticamente posibles, de los grupos de tratamiento (Prueba Tukey). En la **tabla 14 (Anexo n° 8)** se evidencia una similitud significativa ($p = 0.451$) entre los grupos de tratamiento del Experimental II (Gel al 2%) vs Experimental I (Gel 4%), de igual modo entre el Patrón (Pantenol 5%) vs Experimental I (Gel al 2%) con una significancia igual que el versus anterior; ambas comparaciones presentan una menor diferencia de medias de -1 y 1 respectivamente (**Anexo n° 09**). A diferencia de los demás versus, que presentan diferencias significativas, entre ellas se encuentra el grupo Experimental I vs Grupo blanco ($p = 0.000$), Grupo Experimental II vs Grupo blanco ($p = 0.000$), Grupo patrón vs Grupo Experimental II ($p = 0.043$) y por último el Grupo patrón y Grupo blanco ($p = 0.006$), de los cuales Grupo Experimental II vs Grupo blanco presentó la mayor diferencia de

medias (-4,75) seguido del grupo Experimental I vs Grupo blanco (-3.75) (**Anexo n° 09**).

Se puede deducir, según los resultados estadísticos que el Gel al 2% y 4% presentan similitud en relación al tiempo promedio de cicatrización y efecto cicatrizante, que el Gel al 2% y Pantenol 5% presentan similar efecto evidenciado en el tiempo promedio de cicatrización, además que el Gel al 2% y 4% en comparación con el grupo sin tratamiento, presentan diferencias marcadas en su efecto.

El **Gráfico 1** presenta el porcentaje de reducción del tiempo promedio de cicatrización, tomando como referencias al tiempo máximo promedio de cicatrización (12 días), por lo tanto el porcentaje de reducción para el grupo sin tratamiento (blanco) será el 100%, mientras que el grupo con tratamiento de Pantenol 5% su tiempo promedio de cicatrización reduce a 75%, y los grupos con tratamiento del gel al 2% (grupo experimental I) y 4% (grupo experimental II) se reducen a 66.67% y 58.33% respectivamente.

El gel al 2% y 4% a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum*, presenta una reducción marcada del tiempo promedio de cicatrización, a diferencia de los grupos patrón y blanco; estos resultados concuerdan con Kumar et al²¹, donde mencionan que el ungüento del extracto etanólico de *Cestrum nocturnum* (L.) aumenta la tasa de epitelización, resistencia a la tracción y viabilidad del colágeno alrededor del área de la herida, demostrando que al incrementar la epitelización se reduce el tiempo de cicatrización de la herida, ya que también incrementa el colágeno, siendo éste una

célula importante de la epidermis. Por lo tanto se atribuye el efecto cicatrizante al gel elaborado al 2% y 4% a base del extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*, por ser los grupos que presentaron mayor reducción del tiempo promedio de cicatrización.

Díaz *et al*⁵³ menciona que el efecto cicatrizante está estrechamente relacionado con las propiedades antioxidantes porque ésta última, se encarga de la conversión de las sustancias reactivas del oxígeno en moléculas menos perjudiciales, debido a ello protegen a los lípidos del daño oxidativo en el tejido naciente. A la especie del *Cestrum auriculatum* se le realizó un estudio por Cruz y Zapata¹⁶ donde se evaluó la actividad antioxidante del extracto alcohólico de *Cestrum auriculatum L'Hér.* “Hierba santa”, obteniendo que posee actividad antioxidante alta. A su vez Godos²² también realizó el estudio de la actividad antioxidante donde concluyó que las hojas de *Cestrum Auriculatum L'Her* tienen actividad antioxidante.

Por lo tanto se atribuye un efecto cicatrizante al gel al 2% y 4% a base del extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*, porque ha demostrado en los diferentes resultados poseer dicha actividad, además las investigaciones la respaldan. Cabe mencionar que el efecto cicatrizante del Pantenol al 5% presenta una similitud con el gel al 2%.

VI. CONCLUSIONES

1. El gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% tiene efecto cicatrizante en *Rattus rattus var. albinus*.
2. Los principales metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. son Taninos, Flavonoides, Alcaloides, Leucoantocinidinas, saponinas, triterpenos y esteroides, además azúcares reductores.
3. Las características físico-químicas del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa), al 2% y 4% se encontraron dentro de los parámetros normales.
4. En los parámetros “Enrojecimiento y Aumento de temperatura” el gel al 2 % y 4% presentaron 0% al 2do día, y los tratados con Pantenol 5% y sin tratamiento 25% y 75%; la “Formación de Costra Completa” se evidenció por el gel al 2% y 4% al 3er día, los tratados con Pantenol 5% y sin tratamiento al 4to y 5to día; la “Caída de Costra Completa” se evidenció por el gel al 4% al 7mo día, los tratados con Pantenol 5% y gel al 2% al 9no día, y el grupo sin tratamiento al 12vo día; la “Cicatrización Completa”, se evidenció por el gel al 4% al 8vo día, los tratados con Pantenol 5% y gel al 2% al 10mo día, y el grupo sin tratamiento al 13vo día.
5. El tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus var. albinus* del grupo sin tratamiento (blanco) fue 12 ± 1.2 días, del grupo tratado con Pantenol 5% (patrón)

de 9 ± 0.8 días, mientras que para grupos tratados con el gel al 2% (grupo experimental I) y 4% (experimental II) fueron de 8 ± 0.4 y 7 ± 0.4 días respectivamente, demostrando una diferencia estadísticamente significativa, donde $p < 0,05$ ($p = 0,00006$) con un nivel de confianza de 95%.

6. El porcentaje de reducción del tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus var. albinus* para el grupo sin tratamiento (blanco) fue de 100%, el grupo tratado con Pantenol 5% (patrón) tuvo una reducción al 75%, mientras los grupos tratados con el gel al 2% (grupo experimental I) y 4% (experimental II) tuvieron una reducción al 66.67% y 58.33% respectivamente.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- 1) Eyzaguirre CF. El proceso de incorporación de la medicina tradicional y alternativa y complementaria en las políticas oficiales de salud [Tesis] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016 [Citado el 10 de noviembre del 2020]. Disponible en: http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880047/el-proceso-de-incorporacion-de-la-medicina-tradicional-y-altern_CDkDGRx.pdf
- 2) Gallardo GJ. Barboza L. Efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* “Sangre de Drago”. Rev Cient Cienc Med [Revista en línea] 2015 [Citado el 10 de noviembre del 2020]; 18 (1):10-16. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/4260/426041256003.pdf>
- 3) Organización Panamericana de la Salud. Situación de las Plantas Medicinales en el Perú [Internet] Lima: OPS; 2019. [Citado el 10 de noviembre del 2020] Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 4) Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Rev. An. Fac. med [Revista electrónica] 2016 [Citado el 10 de noviembre del 2020]. 77 (4): 327-332. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002
- 5) Carranza RA, Huamanchaqui AA. Efecto cicatrizante de una crema a base de *Solanum tuberosum* (Tocosh) y membrana testácea de huevo de gallina en ratones albinos con lesiones por heridas punzo cortantes [Tesis] Lima: Universidad Inca

- Garcilaso de la Vega; 2017 [Citado el 10 de noviembre del 2020]. Disponible en:
<http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2135/Tesis-%20Carranza%20%20Rosa-%20Huamanchaqui%20Ayme.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- 6) Lima Y, Guzmán V, López Y, Satchwell R. La medicina tradicional herbolaria en los sistemas de salud convencionales. Rev. Hum Med [Revista electrónica] 2018. [Citado el 10 de noviembre del 2020] 19 (1): 201-218. Disponible en:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/hummed/hm-2019/hm191m.pdf>
 - 7) Gallegos M, Gallegos D. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos Ecuador. Rev. An. Fac. med. [Revista electrónica] 2017 [Citado el 11 de noviembre del 2020] 78 (3): 315-321. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832017000300011
 - 8) Carreño CE. Vida y Salud Integral. Boletín Medicina Complementaria [Revista electrónica] 2019 [Citado el 11 de noviembre del 2020] 11 (3): 1-9. Disponible en:
http://www.essalud.gob.pe/downloads/BOLETIN_MC_2019_MAY_A_JUN.pdf
 - 9) Sánchez LJ. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Psoralea glandulosa* “culen” sobre lesiones inducidas en *Rattus rattus var. albinus*. [Tesis] Chimbote-Perú: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; 2019. [Citado el 11 de noviembre del 2020]. Disponible en:
<http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/16294/EFECTO>

[CICATRIZANTE EXTRACTO SANCHEZ BOCANEGRA LIZETT JHOV ANA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](#)

- 10) [Romero W, Batista Z, De Lucca M, García M, Rivera M, García J, Sanchez S. El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. Rev. Perú. med. exp. Salud pública \[Revista electrónica\] 2016 \[Citado el 11 de noviembre del 2020\] 33 \(2\): 288-299. Disponible en: \[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342016000200015\]\(http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342016000200015\)](#)
- 11) Brack A, Mendiola C. Hierba Santa (*Cestrum auriculatum*) [Internet] Perú: Enciclopedia: Ecología del Perú; s.f. [Citado el 12 de noviembre del 2020] Disponible en: https://www.peruecologico.com.pe/med_hierbasanta.htm
- 12) Fernández J. Determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica “in vitro” del extracto hidro-alcohólico de *Cestrum auriculatum* Dun. “Hierba Santa” en bacterias patógenas Gram negativas, Gram positivas y hongos [Tesis] Cajamarca-Perú: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2017. [Citado el 12 de noviembre del 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4531/Bizamie.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 13) López B, Ortonobes S, García CA. Ungüentos, pomadas, cremas, geles y pastas: ¿es todo lo mismo?. Form Act Pediatr Aten Prim [Revista en línea]. 2015 [Citado el 12 de noviembre del 2020]; 8 (4): 183-7. Disponible en: http://archivos.fapap.es/files/639-1294-RUTA/FAPAP_4_2015_Unguentos_pomadas.pdf

- 14) Alvarado B. Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la Cordillera Negra [Tesis] Lima-Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Facultas de Farmacia y Bioquímica; 2017. [Citado el 12 de noviembre del 2020]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/5653>
- 15) Mejía K, Rengifo E. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana [Libro electrónico] 2da edic. Perú: Agencia Española de Cooperación Internacional; 2000. [Citado el 12 de noviembre del 2020] Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>
- 16) Cruz LP, Zapata E. Evaluación de la actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica “in vitro” del extracto alcohólico de *Cestrum auriculatum* L'Hér. “hierba santa” en bacterias patógenas grampositivas, gramnegativas y hongos [Tesis]. Arequipa: Repositorio de tesis de la Universidad Católica Santa María; 2017 [Citado el 12 de noviembre del 2020]. Disponible en: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/6733/65.1570.FB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 17) Curinambe W, Zelada I. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en ratas con inducción a inflamación [Tesis] Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018. [Citado el 12 de noviembre del 2020]. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2085/Tesis%20curinambe%20y%20Zelada.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- 18) Solano MA, Miranda EI. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de

- muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca [Tesis]. Cajamarca: Repositorio de tesis de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2017 [Citado el 12 de noviembre del 2020]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/457/FYB-022-2017.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- 19) Bussmann R, Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía [Libro electrónico] Trujillo-Perú: Biblioteca Nacional del Perú; 2015. [Citado el 12 de noviembre del 2020]. Disponible en: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/916684/plantas-medicinales-de-los-andes-y-la-amazonia-la-flora-magica-Qa3dgqr.pdf>
- 20) Ministerio de Salud (MINSAL). Medicamentos Herbarios Tradicionales (MHT) [Libro electrónico] Chile: Ministerio de Salud de Chile; 2009. [Citado el 12 de noviembre del 2020]. Disponible en: <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2018/02/Libro-MHT-2010.pdf>
- 21) Kumar H, Kumar A, Srivastava R, Lal M, Singh H, Singh M. Investigación farmacológica de la actividad de cicatrización de heridas del ungüento *Cestrum nocturnum* (L.) en ratas *Wistar Albino*. Rev. J Pharm [Revista electrónica] 2016 [Citado el 12 de noviembre del 2020] 2016. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4785265/>
- 22) Cardoza MA. Algunas plantas medicinales de la comunidad indígena de los Kamiai, norte de Baja California. Rev Tlahui-Medic [Revista en línea] 2012. [Citado el 12 de noviembre del 2020]. Disponible en: http://www.tlahui.com/educa/comunidad/tesinas/herbolaria_kumiai.pdf

- 23) Saavedra J. Las plantas medicinales de la sierra central de Piura. Rev. Espacio y desarrollo [Revista en línea] 1995 [Citado el 13 de noviembre del 2020]; (7): 1-92. Disponible en: <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/espacioydesarrollo/article/view/7923/8203>
- 24) Godos Y. Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en hojas de *Cestrum auriculatum L'Her* (Hierba santa) [Tesis] Chimbote: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; 2018. [Citado el 13 de noviembre del 2020]; 40(2), 135-143. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7799/ANTIOXIDANTE_POLIFENOLES_GODOS_CHINCHAYHUARA_YANPIER_YURI.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 25) Gómez M. El color y la edad de la piel: El fotoenvejecimiento. [Tesis] España: Universidad de Sevilla; 2017. [Citado el 13 de noviembre del 2020]; 40(2), 135-143. Disponible en: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/66485/G%C3%B3mez%20Gonz%C3%A1lez%2C%20Mercedes.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 26) Vargas A. Plantas útiles en afecciones de la piel [Internet] Lima-Perú: Universidad Wiener; s.f. [Citado el 13 de noviembre del 2020] Disponible en: <http://studylib.es/doc/123150/diplomatura-en-medicina-natural-y-complementaria--fitoter...>
- 27) Martínez J. Anatomía y Fisiología de la Piel [libro electrónico] Argentina: Educación Secundaria - C.F.G. Superior; 2011. [Citado el 13 de noviembre del 2020] Disponible en: http://www.elmodernoprometeo.es/Sitio_web/Anatomia_files/piel.pdf

- 28) Merino JM, Noriega MJ. Fisiología General [Internet] España: universidad Cantabria; s.f. [Citado el 13 de noviembre del 2020] Disponible en: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/fisiologia-general/materiales-de-clase-1/bloque-ii/Tema%2011-Bloque%20II-La%20Piel.%20Estructura%20y%20Funciones.pdf>
- 29) Galliano S. Histología y Embriología II [Internet] Argentina: Instituto Universitario CEMIC 2015. [Citado el 13 de noviembre del 2020] Disponible en: <https://www.cemic.edu.ar/descargas/repositorio/2Guia%2015%20Piel.pdf>
- 30) Pacheco F. Heridas y Cicatrización. Rev. SEHER [Revista electrónica] 2016 [Citado el 13 de noviembre del 2020] 6 (3): 7-50. Disponible en: https://heridasycicatrizacion.es/images/site/archivo/2016/Revista_SEHER_8_S_EPTIEMBRE_2016_12_Septiembre.pdf
- 31) Mora N, Orujela A. Plan de empresa “Clínica de heridas de atención domiciliaria y ambulatoria” [Tesis] Colombia: Fundación Universitaria Ciencias de la Salud; 2016. [Citado el 14 de noviembre del 2020] Disponible en: <https://repositorio.fucsalud.edu.co/bitstream/001/330/1/REDI-FDA-2016-2.pdf>
- 32) Secretaría de Salud. Manual Clínica para la estandarización del cuidado y tratamiento a pacientes con heridas agudas y crónicas. [Libro electrónico] México: Kunts Gráfico Edit.; 2016. [Citado el 14 de noviembre del 2020] Disponible en: http://www.calidad.salud.gob.mx/site/editorial/docs/Manual_Clinico_Heridas.pdf
- 33) Internacional Wound Infection Institute (IWII). Las infecciones de las heridas en la práctica clínica. [Libro electrónico] EE.UU: Wounds International; 2016.

- [Citado el 14 de noviembre del 2020] Disponible en:
https://www.woundinfection-institute.com/wp-content/uploads/2016/11/IWII-Consensus-2016_WebES.pdf
- 34)** Becerra J, Rodríguez F. Heridas [Internet] España: Servicio de Cirugía General y Digestiva. Hospital Clínico Universitario de Málaga; s.f. [Citado el 15 de noviembre del 2020] Disponible en:
<http://www.medynet.com/usuarios/jraguilar/Manual%20de%20urgencias%20y%20Emergencias/heridas.pdf>
- 35)** Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria (SEHF). Procedimiento de elaboración de formas farmacéuticas [Internet] España: SEHF; s.f. [Citado el 15 de noviembre del 2020]. Disponible en:
https://www.sefh.es/pn/procedimientos_elaboraci%C3%B3n/pn_geles.pdf
- 36)** Universidad Nacional Autónoma de México. Geles [Internet] México: UNAM; 2009. [Citado el 15 de noviembre del 2020]. Disponible en:
http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Geles_5454.pdf
- 37)** Cornejo C, Pinto AC. Efecto Cicatrizante de un gel topico a base de Cketo Cketo (Gamochaeta americana) en animales de experimentación [Tesis doctoral]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2011. [Citado el 16 de noviembre del 2020]. Disponible en:
<http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/3837/65.1447.FB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 38)** Chávez H, Ferreyra C, Surco F. Evaluación de la actividad antiinflamatoria Y cicatrizante de un Gel elaborado a partir del extracto etanólico de las hojas de *Paracalia jungóides* (Hook & Arn) *Cuatrec* "Pirca" [Tesis doctoral]. Ica:

- Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica; 2015. [Citado el 16 de noviembre del 2020]. Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/UNICA/2276/500.110.0000046.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 39) Parzanese M. Liofilización de alimentos [Internet] Argentina: Alimentos argentinos; s.f. [Citado el 16 de noviembre del 2020]. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_03_Liofilizados.pdf
- 40) Universidad Granda. Secado por liofilización [Internet] España: Vicedecanato de Actividades Científicas, Culturales y de Prácticas Externas; s.f. [Citado el 17 de noviembre del 2020]. Disponible en: <http://fciencias.ugr.es/practicadocentes/wp-content/uploads/guiones/SecadoPorLiofilizacion.pdf>
- 41) Cabral E. *Solanaceae* [Internet] Argentina: Universidad Nacional del Nordeste; 2010 [Citado el 17 de noviembre del 2020] Disponible en: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/diversidadv/documentos/ANGIOSPERMAS/Asterideas/Euasterideas%20I%20o%20Lamiideas/Solanales/4-Solanaceae.pdf>
- 42) Mora F, Orozco CI. Lista Preliminar de las especies de *Cestrum L.* (*Solanaceae*) para Colombia. Biota Colom [Revista electrónica]. 2002 [Citado el 17 de noviembre del 2020]; 3 (1) 131–140. Disponible en: <http://icn.unal.edu.co/publicaciones/art/206/3-N1/Cestrum.pdf>
- 43) Mostacero J. *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. Trujillo: Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT); 2018

- 44) Palacios M. Texto digital de farmacognosia y Fitoquímica [Libro electrónico] Chimbote: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2013. [Citado el 18 de noviembre del 2020]. Disponible en: http://campus.uladech.edu.pe/pluginfile.php/8360335/mod_folder/content/0/TEXTODIGITAL%20DE%20FARMACOGNOSIA%20Y%20FITOQUIMICA.pdf?forcedownload=1
- 45) Lock O. Investigación Fitoquímica. 2ª ed. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú editorial; 1994
- 46) Coello R. Elaboración y control de calidad de gel cicatrizante a base de sábila (*Aloe vera*) Y Caléndula (*Calendula officinalis*) [Tesis] Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2012. [Citado el 18 de noviembre del 2020]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1997/1/56T00305.pdf>
- 47) Campoverde JL, Verdugo VM. Determinación del efecto cicatrizante de las hojas de carne humana (*Jungia cf. rugosa*) [Tesis] Ecuador: Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas-Escuela de Química y Farmacia; 2008. [Citado el 18 de noviembre del 2020] Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/20266/1/TESIS.pdf>
- 48) Congreso de la República. Ley N° 30407: Ley de protección y bienestar animal [Internet] Lima: El Peruano; 2016. [Citado el 19 de noviembre del 2020]. Disponible en: <http://www.leyes.congreso.gob.pe/Documentos/Leyes/30407.pdf>
- 49) Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote (ULADECH). Código de Ética para la investigación. V002 [Internet] Chimbote-Perú: ULADECH; 2019. [Citado el 19 de noviembre del 2020] Disponible en:

<https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf>

- 50) Bonilla NC, Varón FA, Garzón LP. Extracción de pigmentos colorantes tipo flavonoides, flor del pomo (*Syzygium jambos*). Zona Verde del Icar. Florencia Caquetá. Amazonia Investiga [Revista en línea] 2014 [Citado el 20 de noviembre del 2020]; 3(5): 34-42. Disponible en: www.udla.edu.co/revistas/index.php/amazonia-investiga/article/download/55/54
- 51) Soriano M, Bonilla P, Arroyo J, Pereyra S. Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Wedd. Rev Folia dermatol [Revista en línea] 2004 [Citado el 22 de noviembre del 2020] 15 (3): 155-159. Disponible en: http://200.62.146.19/BVRevistas/fovia/Vol15_N3/pdf/a04.pdf
- 52) Huamán LS. Extracto acuoso de verbena (*Verbena officinalis* L.) en la cicatrización de heridas cutáneas inducidas en cuyes [Tesis] Tingo María: Universidad nacional Agraria de la Selva; 2013. [Citado el 23 de noviembre del 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/788/TZT-553.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 53) Díaz M, Castro I, Lugo Y, Prieto M, Altunaga N, López O. Potencial antioxidante y cicatrizante de extractos frescos de *Morus alba*. Rev Pastos y Forrajes [Revista en línea] 2017 [Citado el 21 de noviembre del 2020]; 40(2), 135-143. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942017000200007

ANEXOS

Anexo n° 01

Determinación taxonómica del *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa)



Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 037 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- **Clase:** Equisetopsida
- **Subclase:** Magnoliidae.
- **Superorden:** Asteranae
- **Orden:** Solanales
- **Familia:** Solanaceae
- **Género:** *Cestrum*
- **Especie:** *C. auriculatum* Ruiz & Pav.
- **Nombre vulgar:** "hierba santa"

Muestra alcanzada a este despacho por MALDONADO COLLAS ZAEMA GINA, identificado con DNI N° 46040748, con domicilio legal en Villa Magisterial Mz. "H" Lote 21-Nuevo Chimbote; estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Privada Los Ángeles de Chimbote: ULADECH, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: "Efecto cicatrizante del Extracto de las hojas de *Cestrum auriculatum* "hierba santa".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 28 de mayo del 2018



Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

Anexo n° 02

Tabla 9. Reacciones de identificación y metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) según Fracciones

Metabolito	Reacción	Fracción	Resultado	Coloración	
Taninos	Tricloruro férrico	A	+++	Verde	
		D	+++	Verde	
	Gelatina	A	-	-	
		D	-	-	
Flavonoides	Shinoda	A	+++	Rojizo	
		D	-	-	
		E	+++	Magenta	
	Ácido Sulfúrico	A	+	Amarillo	
		D	-	-	
		E	+++	Naranja	
	Hidróxido de Sodio	A	+	Amarillo	
		3%	D	++	Naranja
		E	+++	Amarillo	
	Azúcares reductores	Fehling	A	++	Rojo ladrillo
E			++	Rojo ladrillo	
Quinonas	Molish	A	+	Precipitado violáceo	
	Borntrager	B	-	-	
Alcaloides	Bisulfito de Sodio	B	-	-	
	Dragendorff	C	+	Rojo Naranja	

		D	-	
	Mayer	C	+	Precipitado blanco lechoso
		D	-	-
	Otto	C	-	-
		D	-	-
	Keller	C	+++	Azul intenso
		D	+++	Azul intenso
<i>Cardenólidos</i>	Baljet	C	-	-
		D	-	-
	Tollens	C	-	-
		D	-	-
<i>Leuco- antocianidinas</i>	Rosenhein	D	-	-
		E	+++	Rojo
<i>Triterpenos y Esteroides</i>	Lieberman-	A	+++	Rojo oscuro
	Burchard	B	-	-
		C	+	Rojizo
		D	+++	Rojo
	Ácido tricloro	A	-	-
	acético	C	+++	Rojo oscuro
		D	-	-
<i>Saponinas</i>	Espuma	F	+++	-
	Molish	F	-	-

Fuente: Datos propios de la investigación

Anexo n° 03

Tabla 10. Seguimiento diario de los parámetros de cicatrización de los ratones por grupos

N° de ratas/N° de días	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
GRUPO BLANCO: Sin tratamiento													
1	CH	Ifc	Fc	Fcc	Pc	Icc	Crt	Cc	Cc	Ccc	Pr	Zc	
2	CH	EA	Ifc	Fc	Fcc	Icc	Crt	Cc	Cc	Cc	Cc	Ccc	Zc
3	CH	EA	Fc	Fcc	Icc	Crt	Cc	Cc	Cc	Cc	Ccc	Pr	Zc
4	CH	EA	Ifc	Fcc	Icc	Cc	Cc	Cc	Ccc/Pr	Zc			
GRUPO PATRÓN: Tratado con Pantenol al 5%													
1	CH	Ifc	Fcc	Pc	Icc	Crt	Ccc	Pr	Zc				
2	CH	Ifc	Fcc	Icc	Crt	Cc	Cc	Cc	Ccc/Pr	Zc			
3	CH	Ifc	Fcc	Icc	Crt	Cc	Cc	Ccc	Pr	Zc			
4	CH	EA	Ifc	Icc	Crt	Ccc	Pr	Zc					

GRUPO EXPERIMENTAL I: Gel al 2 % a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum*

1	CH	Ifc	Pc	Crt	Cc	Cc	Ccc	Pr	Zc
2	CH	Fc	Pc	Icc	Crt	Cc	Pr	Zc	
3	CH	Fcc	Icc	Crt	Cc	Cc	Pr	Zc	
4	CH	Fc	Pc	Icc	Crt	Cs	Pr	Zc	

GRUPO EXPERIMENTAL II: Gel al 4% a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum*

1	CH	Ifc	Crt	Cc	Cc	Pr	Zc		
2	CH	Fc	Pc	Pc	Icc	Cc/Pr	Zc		
3	CH	Fcc	Pc	Icc	Crt	Pr	Zc		
4	CH	Fc	Pc	Icc	Crt	Cc	Ccc/Pr	Zc	

CH= Coagulación y hemostasia, **EA**= Enroquecimiento y aumento de temperatura local, **IFC**=Inicio de la Formación de Costra, **FC**=Formación de Costra, **FCC**= Formación de Costra Completa, **PC**=Presencia de Costra, **ICC**= Inicia la Caída de la Costra, **CRT**= Costra Reducida en Tamaño, **CC**= Caída de la Costra, **CCC**= Caída de la Costra Completa, **PR**= Piel Rojiza, **ZC**= Cicatrización Completa

Anexo n° 04

Tabla 11. Parámetro del proceso de cicatrización “Inicio de Formación de Costra (Ifc)” en *Rattus rattus var. albinus* de los diferentes grupos de experimentación en función del tiempo (días)

Días de duración del Parámetro “Inicio de Formación de Costra”	GRUPOS (n=4)							
	PATRÓN:				EXPERIMENTAL I:		EXPERIMENTAL II:	
	BLANCO:		Tratamiento con o con Pantenol al 5%		Tratamiento con gel al 2% a base del Extracto liofilizado de <i>Cestrum auriculatum</i>		Tratamiento con gel al 4% a base del Extracto liofilizado de <i>Cestrum auriculatum</i>	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Día 1	0	0%	0	0%	3	25%	3	25%
Día 2	2	50%	3	75%	4	100%	4	100%
Día 3	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

n: número de repeticiones asignadas a cada grupo.

Anexo n° 05

Tabla 12. Parámetro del proceso de cicatrización “Inicio de Caída de Costra (Icc)” en *Rattus rattus var. albinus* de los diferentes grupos de experimentación en función del tiempo (días)

Días de duración del Parámetro “Inicio de Caída de Costra”	GRUPOS (n=4)							
	BLANCO				PATRÓN:			
	Sin tratamiento				Tratamiento con Pantenol al 5%			
	EXPERIMENTAL I: Tratamiento con gel al 2% a base del Extracto liofilizado de <i>Cestrum</i> <i>auriculatum</i>		EXPERIMENTAL II: Tratamiento con gel al 4% a base del Extracto liofilizado de <i>Cestrum</i> <i>auriculatum</i>					
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Día 3	0	0%	0	0%	1	25%	1	25%
Día 4	0	0%	3	75%	3	75%	3	75%
Día 5	2	50%	4	100%	4	100%	4	100%
Día 6	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

n: número de repeticiones asignadas a cada grupo.

Anexo n° 06

Tabla 13. Tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus var. albinus* por efecto del gel a base del extracto liofilizado de las hojas de *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav. (Hierba Santa) al 2% y 4% con respecto al Pantenol al 5% y ausencia de tratamiento.

Repeticiones (n=4)	GRUPOS (n=4)			
	BLANCO	PATRÓN	EXPER. I	EXPER. II
Rata 1	12	9	9	7
Rata 2	13	10	8	7
Rata 3	13	10	8	7
Rata 4	10	8	8	8
PROMEDIO	12	9	8	7
DE	± 1.2	± 0.8	± 0.4	± 0.4

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

n: número de repeticiones asignadas a cada grupo.

Blanco: Sin tratamiento

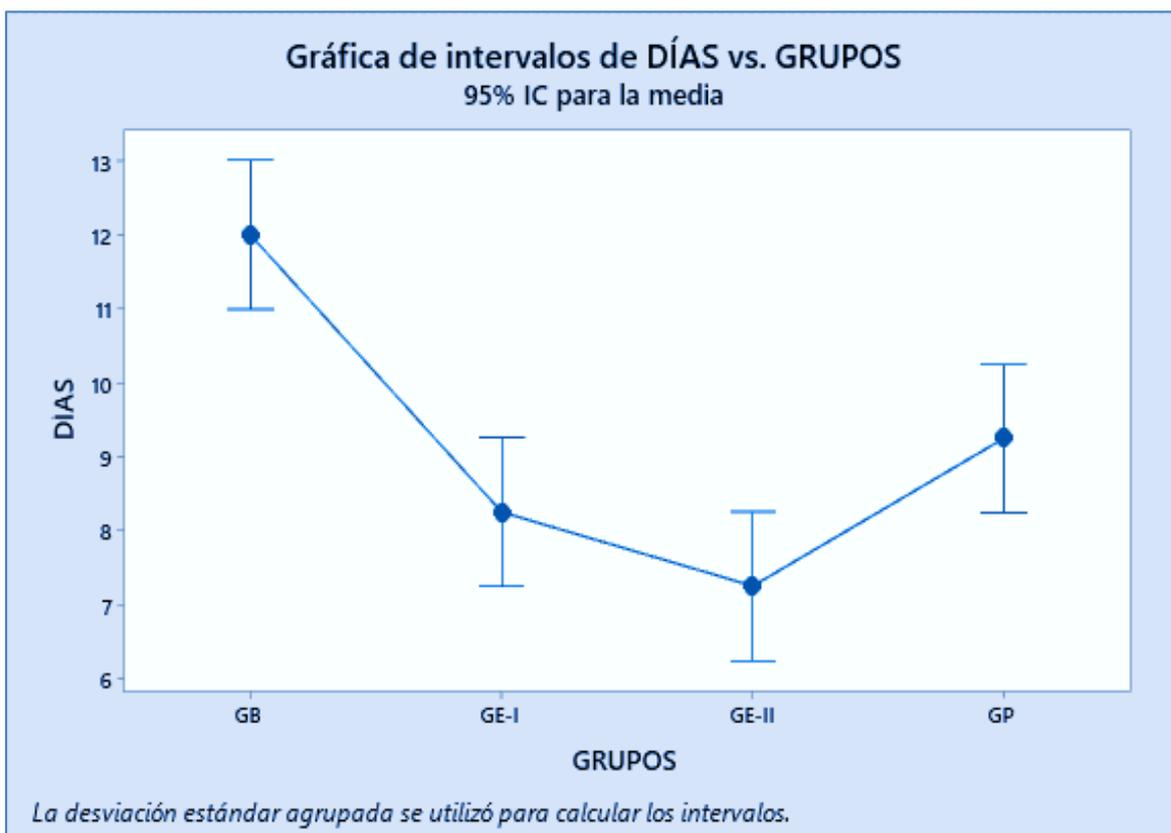
Patrón: Tratamiento con Pantenol al 5%

Experimental I: Tratamiento con gel al 2% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

Experimental II: Tratamiento con gel al 4% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*

DE: Desviación estándar (\pm)

Anexo n° 07



GRUPOS (n=4)	GB	GE-I	GE-II	GP
Media	12	8.25	7.25	9.25

Fuente: Elaboración mediante el análisis de varianza ANOVA

Gráfica 2. Intervalos de confianza en función de la media del tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus var. albinus* entre los grupos de tratamiento.

Leyenda:

n: número de repeticiones asignadas a cada grupo.

GB: Grupo blanco (Sin tratamiento)

GP: Grupo patrón (Tratamiento con Pantenol al 5%)

GE-I: Grupo experimental I (Tratamiento con gel al 2% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*)

GE-II: Grupo experimental II (Tratamiento con gel al 4% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*)

Anexo n° 08

Tabla 14. Análisis de comparación múltiple de Tukey del tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus var. albinus* entre los grupos de tratamiento.

Comparación del tiempo media de cicatrización realizado por método de Tukey			
Grupos	n	Media	Grupos homogéneos
GB	4	12.000	A
GP	4	9.250	B
GE-I	4	8.250	B C
GE-II	4	7.250	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Comparación múltiple estadística (Novel de confianza del 95%)			
Grupos	Significancia al 95%	Valor de p	Decisión
GE-I vs GB	$p < 0.05$	0.000	Si hay diferencia significativa
GE-II vs GB	$p < 0.05$	0.000	Si hay diferencia significativa
GP vs GB	$p < 0.05$	0.006	Si hay diferencia significativa
GE-II vs GE-I	$p > 0.05$	0.451	No hay diferencia significativa
GP vs GE-I	$p > 0.05$	0.451	No hay diferencia significativa
GP vs GE-II	$p < 0.05$	0.043	Si hay diferencia significativa

Fuente: Elaboración mediante el análisis de varianza ANOVA-prueba Tukey.

Leyenda:

n: número de repeticiones asignadas a cada grupo.

GB: Grupo blanco (Sin tratamiento)

GP: Grupo patrón (Tratamiento con Pantenol al 5%)

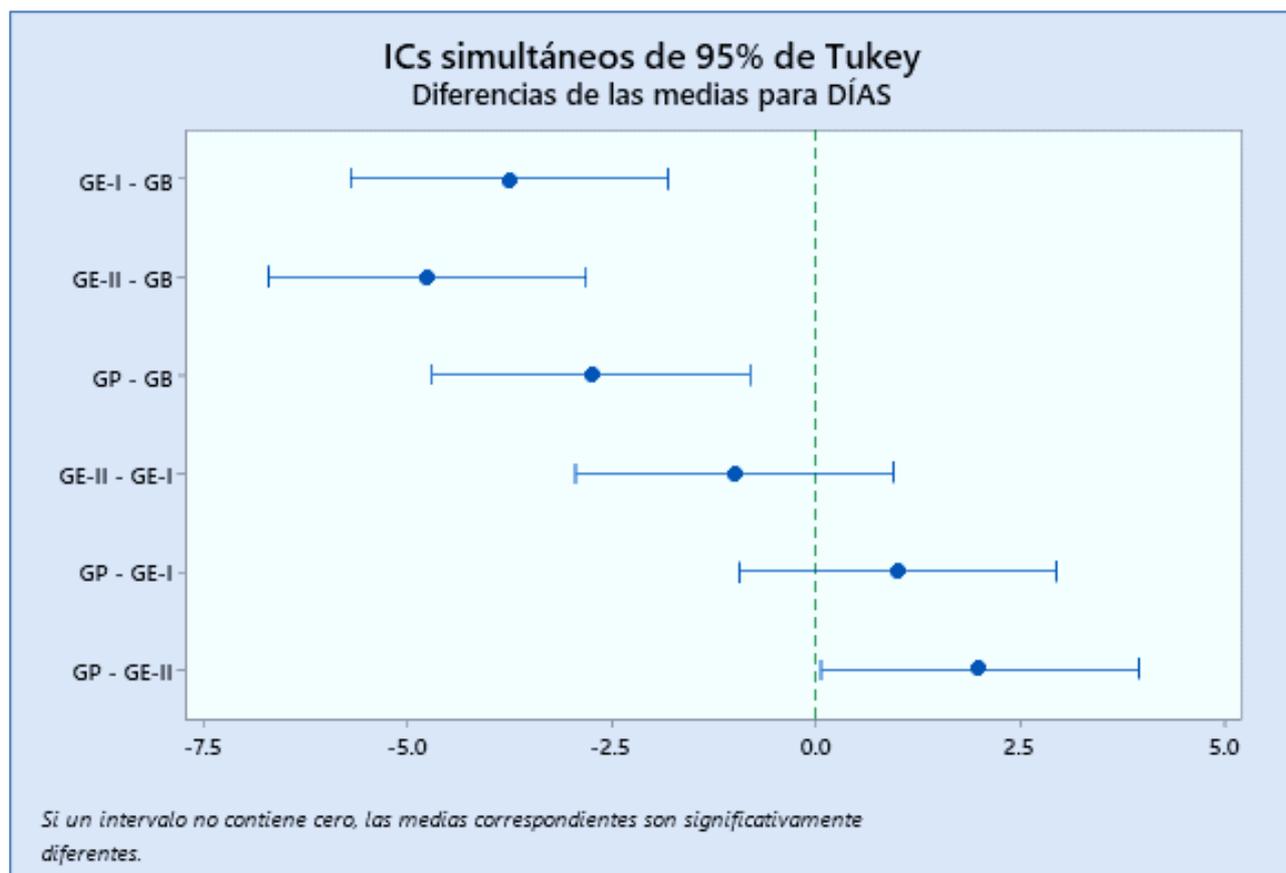
GE-I: Grupo experimental I (Tratamiento con gel al 2% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*)

GE-II: Grupo experimental II (Tratamiento con gel al 4% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*)

P: Probabilidad

A, B y C: Grupos homogéneos

Anexo N° 09



Diferencia de niveles	GE-I vs GB	GE-II vs GB	GP vs GB	GE-II vs GE-I	GP vs GE-I	GP vs GE-II
Diferencia de las medias	-3.75	-4.75	-2.75	-1.00	1.00	2.00

Fuente: Elaboración mediante el análisis de varianza ANOVA-Prueba Tukey.

Gráfica 3. Intervalos de confianza de las diferencias de las medias del tiempo promedio de cicatrización en *Rattus rattus var. albinus* entre los grupos de tratamiento.

Leyenda:

GB: Grupo blanco (Sin tratamiento)

GP: Grupo patrón (Tratamiento con Pantenol al 5%)

GE-I: Grupo experimental I (Tratamiento con gel al 2% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*)

GE-II: Grupo experimental II (Tratamiento con gel al 4% a base de Extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum*)

Anexo N° 10

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav.



Imagen 1. Lugar de recolección del *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav (Carhuaz-Marcará-Vicos).



Imagen 2. Limpieza de las hojas del *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav



Imagen 3. Secado de las hojas del *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav (Hierba santa).

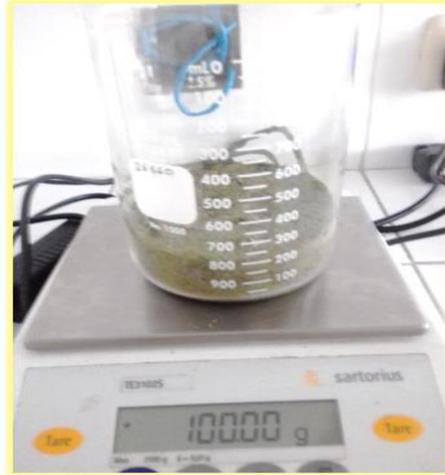


Imagen N°04: Molienda y pesado (100g) de la muestra biológica



Imagen N° 05: Muestra después del reflujo fue filtrada en Caliente. (fracción A)

Imagen N° 06: Muestra en el equipo Rotavapor



Imagen N° 07: Las fracciones desde A hasta la E



Imagen N° 08: Obtención de la Fracción F

Anexo N° 11

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO LIOFILIZADO de *Cestrum auriculatum*

Ruiz & Pav.

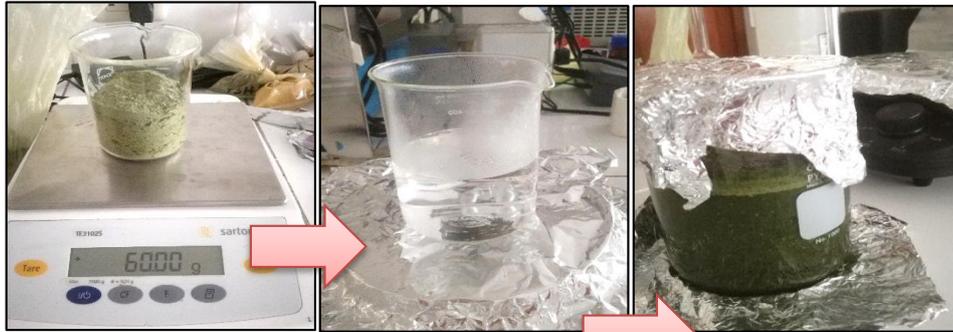


Imagen 9. Preparación de Infusión de las hojas trituradas de *Cestrum auriculatum*
Ruiz. & Pav.



Imagen 10. Filtración al vacío de las hojas trituradas de *Cestrum auriculatum*
Ruiz. & Pav.



Imagen 11. Obtención del extracto liofilizado del *Cestrum auriculatum* *Ruiz. & Pav.*

Anexo N° 12

ELABORACIÓN DEL GEL AL 2% Y 4% A BASE DEL EXTRACTO
LIOFILIZADO DE *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav.

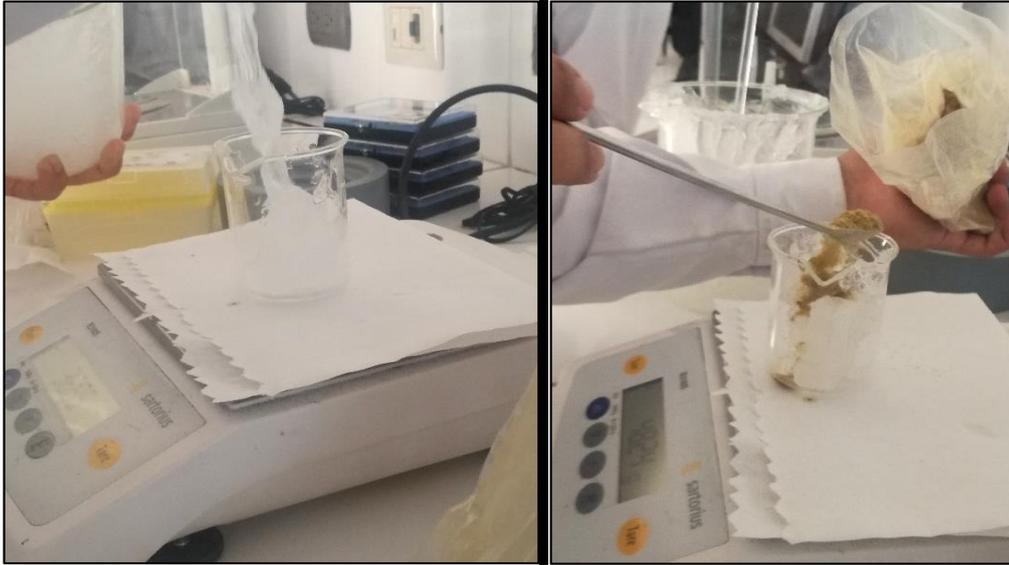


Imagen 12. Pesando gel base (Izquierda), agregando el extracto liofilizado hasta pesar 50g

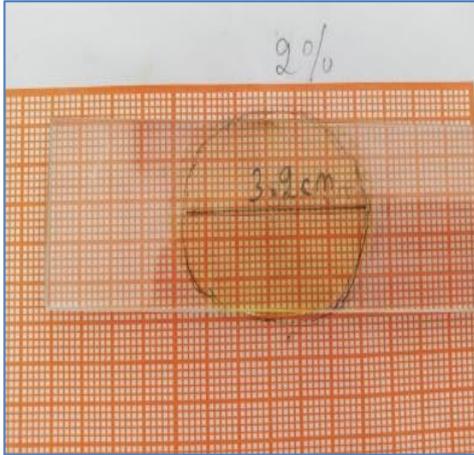
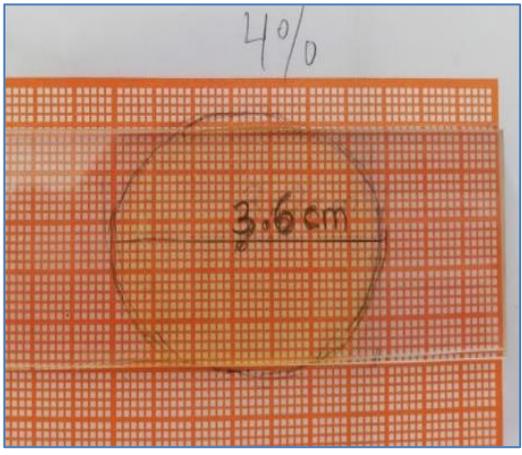


Imagen 13. Pesando gel base (Izquierda), agregando el extracto liofilizado hasta pesar 50g

Anexo N° 13

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL GEL AL 2 % Y 4% A BASE
DEL EXTRACTO LIOFILIZADO DE *Cestrum auriculatum* Ruiz & Pav.**

CARACTERÍSTICAS	Gel al 2%	Gel al 4%
Color	Verde petróleo 	Marrón verdoso 
Olor	Madera húmeda 	Madera húmeda 
Aspecto	Homogéneo, untuoso y deslizable 	Homogéneo, untuoso y deslizable 

<p>Presencia de grumos</p>	<p>Ausente</p> 	<p>Ausente</p> 
<p>Extensibilidad (máx: 5cm)</p>	<p>3.2 cm</p> <p>2%</p> 	<p>3.6 cm</p> <p>4%</p> 
<p>Ph (4-7)</p>	<p>6.9</p> 	<p>6.8</p> 

Anexo n° 14

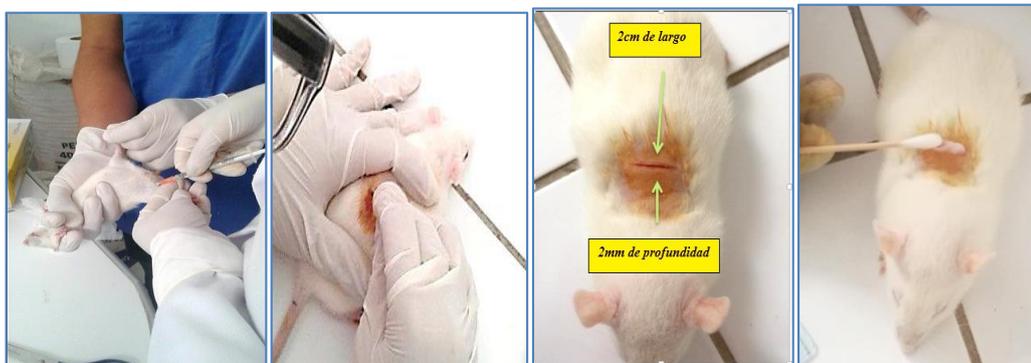
EFECTO CICATRIZANTE



Los animales de experimentación son pesados para poder sacar la dosis de administración de Midazolam.



Después de la administración de la Midazolam se rasura a cada rata de experimentación, en un área de 4cm x4cm aproximadamente en el lomo.



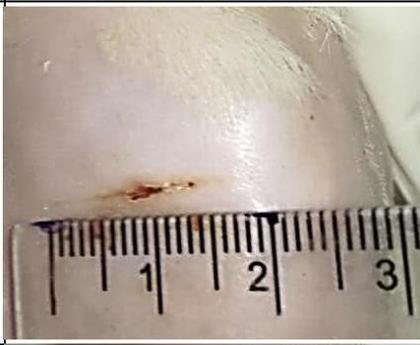
A 24 horas de la depilación, se anestesia con Midazolam, se procede a realizar la incisión (según el método “lesión inducida en ratas por corte” por González y Rodríguez), previa desinfección. Luego se administra los tratamientos correspondientes a cada grupo cada día.

PROCESO DE CICATRIZACIÓN DIARIO DEL GRUPO BLANCO

(Sin tratamiento)

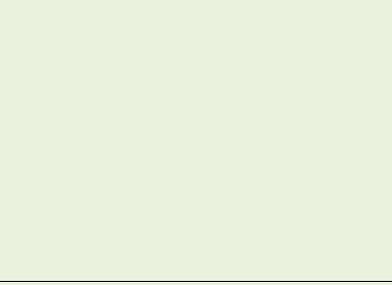
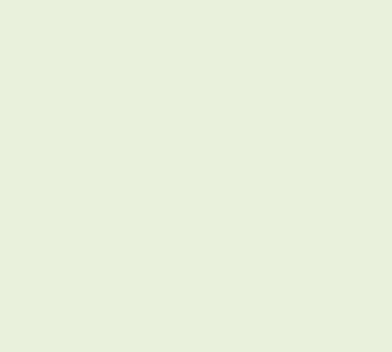
GRUPO BLANCO/N° de días	REPETICIONES	
	2	3
Día 1		
Día 2		
Día 3		
Día 4		



<p>Día 9</p>		
<p>Día 10</p>		
<p>Día 11</p>		
<p>Día 12</p>		
<p>Día 13</p>		

PROCESO DE CICATRIZACIÓN DIARIO DEL GRUPO PATRÓN
(Tratado con "Pantenol al 5%")

GRUPO PATRÓN/Nº DE DÍAS	REPETICIONES	
	3	4
Día 1		
Día 2		
Día 3		
Día 4		
Día 5		

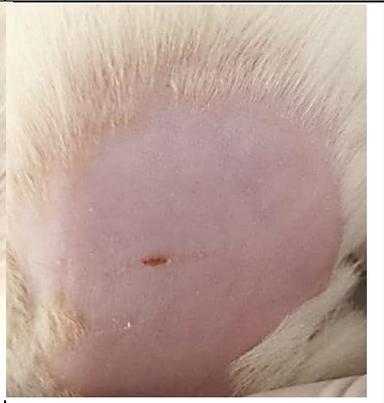
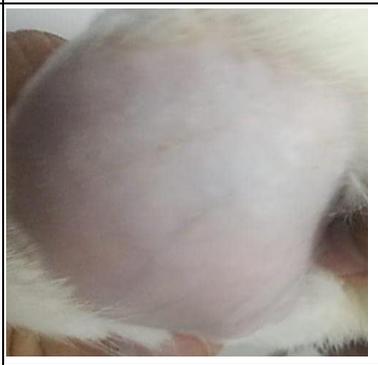
<p>Día 6</p>		
<p>Día 7</p>		
<p>Día 8</p>		
<p>Día 9</p>		
<p>Día 10</p>		

PROCESO DE CICATRIZACIÓN DIARIO DEL GRUPO EXPERIMENTAL

I

Gel a base del extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum* al 2%

GRUPO EXPERIMENTAL I / N° DE DÍAS	REPETICIONES	
	2	4
Día 1		
Día 2		
Día 3		
Día 4		

<p>Día 5</p>		
<p>Día 6</p>		
<p>Día 7</p>		
<p>Día 8</p>		

PROCESO DE CICATRIZACIÓN DIARIO DEL GRUPO EXPERIMENTAL

II

Gel a base del extracto liofilizado de *Cestrum auriculatum* al 4%

GRUPO EXPERIMENTAL II /N° de días	REPETICIONES	
	3	4
Día 1		
Día 2		
Día 3		

<p>Día 5</p>		
<p>Día 6</p>		
<p>Día 7</p>		
<p>Día 8</p>	