

Actividad cicatrizante de seis extractos hidroalcohólicos de plantas en heridas incisas de *Rattus norvegicus albinus*

Healing activity of six hydroalcoholic extracts of plants in incised wounds of *Rattus norvegicus albinus*

Héctor Alexander Vílchez Cáceda^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-7094-0821>

Miguel Angel Inocente Camones¹ <https://orcid.org/0000-0003-0397-4356>

Oscar Bernuy Flores López¹ <https://orcid.org/0000-0001-9091-2537>

¹Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Laboratorio de Investigación y Desarrollo Farmacéutico. Lima, Perú.

*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: hvilchezc@uigv.edu.pe

RESUMEN

Introducción: En la medicina militar, los agentes cicatrizantes naturales frente a heridas por incisión son relevantes en el tratamiento de los militares.

Objetivo: Evaluar la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de *Peperomia congona Sodiro* (congona), *Annona muricata L.* (guanábana), *Urtica urens L.* (ortiga), *Ormosia coccinea (Aubl) Jacks* (huayruro), *Opuntia ficus-indica L. Mill.* (tuna) y *Musa acuminata Colla* (plátano bellaco) en heridas incisas de *Rattus norvegicus albinus* (rata albina).

Métodos: Estudio analítico experimental de tipo prospectivo y longitudinal. Se realizó el análisis fitoquímico preliminar de los 6 extractos. Se emplearon 80 ratas albinas machos, aleatorizadas y distribuidas en 8 grupos (n = 10). Se realizó una aplicación dermal durante 10 días consecutivos posteriores a la generación de heridas incisas que se realizaron en el dorso. Grupo I (cloruro de sodio al 0,9 %). Grupo II (gel cicatrizante comercial). Del Grupo III al VIII fueron tratados con extracto

hidroalcohólico de congona, guanábana, ortiga, huairuro, tuna y plátano bellaco respectivamente. La evolución de la cicatrización fue seguida en los días 1, 5 y 11 y medida en milímetros.

Resultados: Se detectó la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides en los 6 extractos; además de cumarinas en congona, taninos en guanábana, ortiga, tuna y huayruro, y quinonas en guanábana y plátano bellaco. Se comprobó la actividad cicatrizante en los extractos de guanábana (69,77 %), tuna (66,27 %), plátano bellaco (64,38 %), ortiga (56,73 %), congona (55,74 %) y huayruro (54,50 %), comparados con un gel comercial (72,21 %).

Conclusiones: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata L.* (guanábana) presentó la mayor actividad cicatrizante en heridas incisas de ratas albinas machos.

Palabras clave: heridas; actividad cicatrizante; *Peperomia congona Sodiuro*; *Annona muricata L.*; *Urtica urens L.*; *Ormosia coccinea (Aubl) Jacks*; *Opuntia ficus-indica (L.) Mill.*; *Musa acuminata colla*.

ABSTRACT

Introduction: In military medicine, natural healing agents against incision wounds are relevant in the treatment of the military.

Objective: To evaluate the healing activity of the hydroalcoholic extracts of *Peperomia congona Sodiuro* (congona), *Annona muricata L.* (guanabana), *Urtica urens L.* (ortiga), *Ormosia coccinea (Aubl) Jacks* (huairuro), *Opuntia ficus-indica L. Mill.* (tuna) and *Musa acuminata Colla* (platano bellaco) in incised wounds of *Rattus norvegicus albinus* (albino rat).

Methods: Experimental analytical study of prospective and longitudinal type. The preliminary phytochemical analysis of the 6 extracts was carried out. We used 80 male albino rats, randomized and distributed in 8 groups (n = 10). A dermal application was made during 10 consecutive days after the generation of incised wounds that were made on the back. Group I (0.9% sodium chloride). Group II (commercial healing gel). From Group III to VIII they were treated with hydroalcoholic extract of congona, guanábana, ortiga, huairuro, tuna and platano bellaco respectively. The evolution of healing was followed on days 1, 5 and 11 and measured in millimeters.

Results: The presence of alkaloids, phenolic compounds and flavonoids was detected in the 6 extracts;

in addition to coumarins in congona, tannins in guanábana, nettle, tuna and huayruro, quinonas in guanábana and plantain bellaco. The healing activity was verified in the extracts of guanabana (69.77 %), tuna (66.27 %), platanillo bellaco (64.38 %), ortiga (56.73 %), congona (55.74 %) and huayruro (54.50 %), compared with a commercial gel (72.21 %).

Conclusions: The hydroalcoholic extract of the leaves of *Annona muricata* L. (guanábana) showed the highest healing activity in incised wounds of male albino rats.

Keywords: wounds; scar activity; *Peperomia congona* Sodiro; *Annona muricata* L.; *Urtica urens* L.; *Ormosia coccinea* (Aubl) Jacks; *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.; *Musa acuminata* colla.

Recibido: 12/07/2019

Aprobado: 18/12/2019

INTRODUCCIÓN

En la medicina militar se han desarrollado técnicas médicas para restablecer la salud y reducir las secuelas en los heridos de los conflictos bélicos.^(1,2) Se ha demostrado, que desde tiempos remotos, los recursos vegetales contribuyen en gran medida con la salud del hombre.⁽³⁾ La Organización Mundial de la Salud indica que un tercio de la población no tiene acceso a medicinas modernas, como es el caso de algunas partes de África, Latinoamérica y Asia,⁽⁴⁾ por ejemplo, en conflictos bélicos o ejercicios riesgosos de los militares; sin embargo, en esas situaciones de emergencia, se desarrollan fórmulas farmacéuticas solo con el uso de plantas medicinales.⁽⁵⁾

La piel es la primera línea de defensa que puede dañarse por heridas y exponerse a la acción de microorganismos patógenos los cuales colonizan la zona; si el individuo está inmunocomprometido, puede desencadenarse una emergencia médica, por lo cual es necesario administrar productos con propiedades cicatrizantes.⁽⁶⁾ Las heridas en la piel son un dilema de salud pública que perjudica a la población mundial, sobretodo en el sector militar, los cuales requieren diversas opciones terapéuticas alternativas para garantizar una atención ideal a los usuarios que las padecen.^(1,2,4)

En Sudamérica, Perú presenta un potencial en recursos vegetales con propiedades medicinales, debido a su heterogénea cantidad de flora, utilizadas desde la época de los incas. Actualmente, el uso de plantas medicinales para cicatrizar heridas como *Peperomia congona Sodiro* (congona), *Annona muricata L.* (guanábana), *Urtica urens L.* (ortiga), *Ormosia coccinea (Aubl) Jacks* (huairuro), *Opuntia ficus-indica (L.) Mill.* (tuna) y *Musa acuminata Colla* (plátano bellaco), se relaciona con el contenido de mezclas químicas que poseen actividad farmacológica conocida, así como metabolitos secundarios capaces de ser separados, purificados y posteriormente modificados con fines terapéuticos, en forma de especialidades farmacéuticas.^(7,8,9,10,11,12)

El objetivo del estudio es evaluar la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de *Peperomia congona Sodiro* (congona), *Annona muricata L.* (guanábana), *Urtica urens L.* (ortiga), *Ormosia coccinea (Aubl) Jacks* (huairuro), *Opuntia ficus-indica L. Mill.* (tuna) y *Musa acuminata Colla* (plátano bellaco) en heridas incisas de *Rattus norvegicus albinus* (rata albina).

MÉTODOS

El diseño de investigación es un estudio experimental en animales. La colecta de las muestras vegetales fue aleatorizada en campos de cultivo, cuyas ubicaciones geográficas fueron: hojas de *Peperomia congona Sodiro* (congona) en el distrito y provincia de Huaraz, departamento de Ancash; hojas de *Annona muricata L.* (guanábana) en Carapongo, distrito de Lurigancho-Chosica, provincia y departamento de Lima; hojas de *Urtica urens L.* (ortiga) en el distrito de Palcamayo, provincia de Tarma, departamento de Junín; tallos de *Ormosia coccinea (Aubl) Jacks* (huairuro) en el distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas, departamento de Loreto; pencas de *Opuntia ficus-indica (L.) Mill.* (tuna) en el distrito de San Bartolomé, provincia de Huarochirí, departamento de Lima; cáscaras de *Musa acuminata Colla* (plátano bellaco) en el Valle del río Aguaytía, provincia del Padre Abad, departamento de Ucayali.^(7,8,9,10,11,12)

Las muestras de las seis plantas medicinales, fueron seleccionadas y estabilizadas en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo Farmacéutico de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Las hojas, tallos, pencas y cáscaras fueron limpiadas, lavadas y trozadas en fracciones pequeñas, después se realizó el

secado a una temperatura de 40 °C por 90, 120, 140 y 160 horas respectivamente, para ser posteriormente micro pulverizadas. Luego se procedió a elaborar los extractos hidroalcohólicos en etanol al 70 % durante 7 días, con agitación cada 12 horas. Después se realizó el proceso de filtrado con papel Whatman N° 40 y se llevó a sequedad en una estufa de secado a 40 °C ± 2 °C hasta agotar el solvente y alcanzar un peso seco estable, luego se almacenaron en envases de vidrio de color ámbar y sellado hermético. Se colocaron en refrigeración a 4 °C ± 2 °C hasta su uso.

La identificación de metabolitos secundarios se ejecutó mediante el análisis fitoquímico preliminar, por técnicas químicas de reacción por coloración y precipitación, como las de reacción de Molish (carbohidratos), ninhidrina (aminoácidos libres), Dragendorf (alcaloides), Shinoda (flavonoides), tricloruro f érrico (compuestos fenólicos), gelatina-sal (taninos), Rosenheim (antocianinas), Lieberman-Burchard (esteroides y triterpenoides), Bornträger (antraquinonas), Legal y Baljet (Lactonas Sesquiterpénicas), KOH 0,5M y UV (cumarinas) y la prueba de la espuma (saponinas).^(13,14,15)

Para el ensayo biológico se utilizaron las directrices para la manipulación de animales de experimentación de la Directiva 2010/63/EU sobre el cuidado de los animales en el bioterio y las condiciones de las buenas prácticas de laboratorio y según las guías para el manejo de animales de laboratorio planteado en la Declaración de Helsinki 2013.⁽¹⁶⁾ Para efectuar la eutanasia a los animales, previamente se les administró ketamina 5 mg/kg por vía intramuscular y posteriormente se procedió a sacrificarlos por dislocación cervical.^(16,17,18)

La especie biológica *Rattus norvegicus* (Holtzman- cepa albina) fue brindada por el Instituto Nacional de Salud (INS) del Perú y fueron trasladados a las instalaciones del bioterio de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, donde se procedió a aclimatarlos durante 7 días a 26 °C ± 1 °C, humedad relativa de 66 % ± 4 % y periodos de luz /oscuridad (12/12 horas), con acceso libre a los alimentos estandarizados (*Ad libitum*) y agua destilada. Posterior a la aclimatación, las ratas de 4 meses de nacidas, lograron superar 225 gramos y se emplearon 80 animales de experimentación teniendo en cuenta los lineamientos de la Guía OECD - Test 402 Actividad Cicatrizante con el modelo de heridas incisas.⁽¹⁹⁾

Los animales de experimentación fueron pesados antes del experimento, luego anestesiados con ketamina 100 mg/kg y xilacina 15 mg/kg, luego depilados en el área dorsal con una crema depilatoria comercial. Después de 24 horas, en condiciones asépticas, mediante el uso del bisturí se realizó una lesión de 30

milímetros de diámetro y una profundidad de 2 milímetros. Las lesiones por incisión realizadas fueron a 1,26 cm dirección diestra de la raya promedio y 2,60 cm del área del cráneo.^(20,21,22)

Las ratas albinas fueron distribuidas aleatoriamente en 8 grupos de n = 10:

- Grupo I: control, ratas tratadas con suero fisiológico al 0,9 %.
- Grupo II: control, ratas tratadas con el gel comercial marca Cicatricure.
- Grupo III: ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de hojas de congona al 25 %.
- Grupo IV: ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de hojas de guanábana al 25 %.
- Grupo V: ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de hojas de ortiga al 10 %.
- Grupo VI: ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de tallos de huairuro al 2 %.
- Grupo VII: ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de penca de tuna al 25 %.
- Grupo VIII: ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de cáscaras de plátano bellaco al 4 %.

La administración de las muestras se realizó tópicamente en la zona de incisión con un hisopo estéril, 2 veces al día a las 8:00 a.m. y 8:00 p.m. durante 10 días.

Se evaluó el peso corporal durante 11 días con la finalidad de apreciar las manifestaciones tóxicas de las muestras aplicadas, tanto a nivel corporal como conductual.

Luego, se determinó la actividad cicatrizante frente a la producción de heridas incisas; se evaluó el cierre de las áreas frente a un modelo experimental de 10 días de administraciones consecutivas. A todos los cortes se les procedió a fotografiar con una cámara digital profesional (18 megapíxeles) a 15 cm de distancia de las áreas lesionadas durante los días 1, 5, y 11. Para medir el potencial de cicatrización de las seis muestras de plantas medicinales sobre las heridas, se procesaron todas las fotografías a la distancia de 15 cm, las cuales fueron impresas y con un planímetro digital, se pasó por el contorno de las lesiones para el cálculo del área de reducción (mm²) y la actividad cicatrizante se expresó en porcentaje.⁽²¹⁾

En el estudio se delimitan como variables el análisis fitoquímico preliminar, el peso corporal de los animales de experimentación y la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos.

Las variables peso corporal de los animales de experimentación y actividad cicatrizante fueron presentadas como promedio aritmético ± desviación estándar. Para la variable de peso corporal se utilizó el *One-way* ANOVA, posteriormente se analizó si existía diferencia estadística significativa. Para las variables peso corporal y actividad cicatrizante, se analizaron mediante el test de Tukey. Se consideró

como nivel de significancia $p < 0,05$ y se empleó el programa informático SPSS para Windows versión 21.

RESULTADOS

En el análisis fitoquímico preliminar se detectó la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides en los 6 extractos hidroalcohólicos, además de cumarinas en hojas de congona, taninos en hojas de guanábana, hojas de ortiga, penca de tuna y tallos de huairuro, y quinonas en hojas de guanábana y cáscara de plátano bellaco (tabla 1).

Tabla 1 - Análisis fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos de las especies estudiadas

Metabolito Secundario	Reactivo	Congona	Guanábana	Ortiga	Huairuro	Tuna	Plátano bellaco
Carbohidratos	Molish	+	+	+	+	-	+
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	+	+++	+++	+++	++	+++
Taninos	Gelatina	-	+++	++	++	++	-
Flavonoides	Shinoda	++	+++	+++	++	+++	++
Antocianinas	Rosenheim	-	-	-	-	-	-
Aminoácidos libres	Ninhidrina	-	+++	+++	-	-	-
Alcaloides	Dragendorff	+	+++	+++	+++	+++	++
Quinonas	Bornträger	-	+	-	+	-	++
Triterpenoides	Liebermann	-	-	-	+	-	-
Saponinas	Espuma	-	-	-	-	-	-
Lactonas	Baljet/Legal	-	-	-	-	-	-
Cumarinas	KOH 0,5M/UV	+	-	-	-	-	-

Leyenda: +++ Abundante, ++ Moderado, + Escaso, - No presenta.

En relación al peso corporal, durante el tiempo de estudio de 11 días, no se apreciaron manifestaciones tóxicas de las muestras aplicadas, tanto a nivel corporal como conductual, no se evidenció mortalidad ni disminución de peso (tabla 2).

Tabla 2 - Variaciones del peso corporal de las ratas en estudio (n= 10)

Días	Peso corporal (gramos) * ^Y							
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V	Grupo VI	Grupo VII	Grupo VIII
1	241± 10,27	241,6± 8,60	240,9± 6,99	239,6± 1,51	239,5± 7,33	240,1± 6,30	242,5± 6,21	239,4± 1,40
5	242,4± 9,14	241,8± 9,27	242,3± 0,67	240,1± 6,30	241,3± 7,30	241± 10,27	242,6± 5,23	240,9± 6,99
11	243,5± 9,91	243± 8,86	243,6± 0,98	242,1± 1,51	242± 6,45	242± 6,59	243,2± 5,70	242± 6,45

*HSD de Tukey, p < 0,05, no existen diferencias significativas entre grupos.

^YAnova, p < 0,05, no existen diferencias significativas entre grupos.

Tabla 3 - Actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos sobre modelo de incisión de herida circular por vía tópica (n= 10)

Grupos experimentales	Área herida (mm ²) expresado en media ± desviación estándar /días			Porcentaje Eficacia
	1*	5* ^Y€	11* ^Y€	
Grupo I: NaCl 0,9 %	342,9± 10,24	281,1± 5,10	161,5± 2,56	52,90
Grupo II: Gel comercial (Cicatricure)	341,9± 8,96	190,9± 4,45	95,0± 2,16	72,21
Grupo III: Extracto Hidroalcohólico de hojas de congona al 25 %.	341,0± 6,59	247,8± 10,69	150,9± 8,94	55,74
Grupo IV: Extracto hidroalcohólico de hojas de guanábana al 25 %.	342,1± 1,51	206,0± 2,56	103,4± 1,42	69,77
Grupo V: Extracto hidroalcohólico de hojas de ortiga al 10 %.	340,5± 7,33	234,3± 3,79	137,1± 2,05	59,73
Grupo VI: Extracto hidroalcohólico de tallos de huayruro al 2 %.	342,6± 0,98	268,3± 1,87	155,8± 2,13	54,50
Grupo VII: Extracto hidroalcohólico de cáscara de tuna al 25 %.	341,6± 6,18	217,4± 2,57	115,2± 2,55	66,27
Grupo VIII: Extracto hidroalcohólico de cáscara de plátano bellaco al 4 %.	340,9± 6,99	220,1± 3,49	121,4± 3,45	64,38

*HSD de Tukey, p < 0,05, día 1 vs día 5, día 1 vs día 11, día 1 y 5 vs día 11.

^YHSD de Tukey, p < 0,05, día 5 y 11: grupo III, IV, V, VI, VII y VIII vs grupo I.

[€]HSD de Tukey, p < 0,05, día 5 y 11: grupo III, IV, V, VI, VII y VIII vs grupo II.

En relación a la actividad cicatrizante, durante el periodo de estudio de 11 días, sobre el modelo de incisión de herida circular en vía tópica; se observa disminución del área herida y cierre en forma de cicatrización por acción de los extractos hidroalcohólicos de las 6 plantas (tabla 3).

DISCUSIÓN

En el proceso de cicatrización se realizan una serie de pasos que lo hacen complejo, intervienen una gama de elementos celulares que producen las proteínas requeridas para el acto inflamatorio y la restauración del tejido, el organismo ante un proceso de cicatrización trata de copiar parte del tejido perdido por una imitación de la estructura y funcionalidad original, que no son regeneradas.⁽²³⁾

Diversos investigadores identifican metabolitos secundarios en extractos crudos (etanólicos) para ser empleados en modelos experimentales de laboratorio con la finalidad de acelerar el tiempo de reparación del cierre de las heridas evitando procesos como de la inflamación y la proliferación de microorganismos, de los cuales en futuras investigaciones se podrían aislar para ser base de la elaboración de potenciales fármacos. Entonces, los resultados del estudio fitoquímico preliminar son concordantes con los metabolitos secundarios reportados por otros autores para las seis muestras de plantas medicinales.^(7,8,9,10,11,12)

Los resultados de *Santamaría*⁽²⁴⁾ comprueban la relación de la cicatrización con la sinergia de los taninos y flavonoides. Por su parte, *Celestino*⁽⁹⁾ demostró en la evaluación fitoquímica, la existencia de los principios con propiedades farmacológicas; logró la cicatrización mediante la disminución del diámetro de las heridas en los animales de experimentación. *Prado*⁽²⁵⁾ determina que los flavonoides poseen efecto cicatrizante significativamente mayor que el estándar Dermaclín Plus. *Vargas*,⁽¹⁰⁾ demostró en la marcha fitoquímica del extracto de *Ormosia coccinea* un alto contenido de alcaloides en los tallos, del mismo modo comprobó que la crema de extractos de *Ormosia coccinea* y *Ananas comosus* al 2 %, posee efecto cicatrizante en piel lesionada de ratones albinos y presentó un porcentaje de eficacia del 56,10 %. *Bejar*,⁽¹¹⁾ demostró que el cierre del diámetro de la herida, la hidratación del tejido y la desinflamación fueron más rápidas usando el gel en base a tuna; se mostraron signos considerables de cicatrización dérmica y curaron más rápido, comparado con el grupo que no tuvo tratamiento. *Ibazeta*,⁽¹²⁾ comprobó

la actividad cicatrizante del gel elaborado de la cáscara de plátano bellaco al 4 %, en ratones que fueron sometidos a una herida superficial de 1 cm en el lomo, para luego aplicarse un gel durante 7 días cada 12 horas. Al finalizar se aplicó tensión en la herida ya cicatrizada; el gel actúa como cicatrizante en heridas inducidas en ratas albinas. Los resultados de su investigación ratifican las investigaciones propuestas por Cuba.⁽²⁹⁾

Los metabolitos denominados taninos favorecen el proceso de la cicatrización de heridas mediante varias articulaciones celulares, que incluyen la inhibición de los radicales libres y de las especies reactivas oxigenadas, lo cual facilita el cierre el diámetro de la herida, amplía la génesis de nuevos capilares sanguíneos (angiogénesis) y la aparición de fibroblastos.^(10,26,27,28) Los compuestos fenólicos tales como los flavonoides, taninos y ácidos fenólicos tienen un trabajo vital en el proceso del cierre de una herida. Los principios denominados taninos flavonoides y triterpenos, trabajan anulando o disminuyendo radicales libres, promueven el cierre de las heridas por sus características secantes y antibacterianas. Las saponinas, por sus actividades antioxidantes antimicrobianas y antimicrobianas, es probable que sean las responsables de la disminución del cierre de la herida y aumenten la tasa de reepitelización.^(10,26,27,28)

Los taninos son compuestos fenólicos producidos por el metabolismo secundario de las plantas. Según Mendoza,⁽³⁰⁾ poseen capacidad astringente, la cual aumenta el número de enlaces cruzados entre las fibras de colágeno, en la matriz rica en colágeno. Evidenciaron que los taninos ayudan a la vasoconstricción, al reducir la permeabilidad vascular y producir una acción antiinflamatoria. Del mismo modo, se sabe que poseen efecto antimicrobiano y estimulan el crecimiento de la epidermis, ayudando a la reepitelización, proceso que envuelve la proliferación y migración de las células que se encuentran en los extremos de las heridas, regulado por mecanismos que envuelven genes, factores de crecimiento, matrices extracelulares y metaloproteinasas.⁽³¹⁾

Se concluye que los extractos hidroalcohólicos de *Annona muricata* L. (guanábana) al 25 %, *Opuntia ficus-indica* L. Mill. (tuna) al 25 % y *Musa acuminata* Colla (plátano bellaco) al 4 % presentan actividad cicatrizante con proyección similar al gel referencia de marca comercial. En el caso de los extractos hidroalcohólicos de *Urtica urens* L. (ortiga) al 10 %, *Peperomia congona* Sodiro (congona) al 25 % y *Ormosia coccinea* (Aubl) Jacks (huayruro) al 2 %, presentan actividad cicatrizante similar al proceso de cicatrización normal fisiológico, en heridas incisas de *Rattus norvegicus albinus* (rata albina).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Quevedo C, Cárdenas R. Medicina militar desde la medicina del trabajo militar a la especialidad médica. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2017 [acceso: 09/07/2019]; 46(4): 308-312. Disponible en: https://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572017000400001
2. Arias J, Aller M, Arias J, Lorente L. *Fisiopatología quirúrgica. Traumatismos, infecciones, tumores*. 1 ed. Madrid: Editorial Tébar; 1999.
3. Wink M. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines (Basel)*. 2015 [acceso: 10/07/2019]; 2(3): 251-286. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2305-6320/2/3/251/htm>
4. Posnett J, Franks P. The burden of chronic wounds in the UK. *Nurs Times*. 2008 [acceso: 10/07/2019]; 104(3): 44-45. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/9eae/3df70995e1bd693605c164624-f4cfdac9b70.pdf>
5. Noriega P, Mosquera T, Baldisserotto A, Abad J, Aillon C, Cabezas D, et al. Chemical composition and in-vitro biological activities of the essential oil from leaves of *Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav. *AJEONP*. 2015 [acceso: 10/07/2019]; 2(4): 29-31. Disponible en: <https://www.essencejournal.com/vol2/issue4/pdf/2-4-4.1.pdf>
6. Ramírez G. Fisiología de la cicatrización cutánea. *Revista Facultad de Salud*. 2010 [acceso: 10/07/2019]; 2(2): 69-78. Disponible en: <https://journalusco.edu.co/index.php/rfs/article/view/57/88>
7. Huansha Pérez AR, Villón Chávez EM. Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Peperomia congona* Sodiro (*congona*) en ratas. [tesis de título profesional]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; 2018.
8. Balvin Palacios YR, Tardeo Vidalón Y. Efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratas albinas. [tesis de título profesional]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; 2018.
9. Celestino Mallqui KJ, López Parra JC. Efecto cicatrizante de un gel a base del extracto etanólico de las hojas de ortiga (*Urtica urens* L.) y extracto etanólico del mucílago de la sábila (*Aloe vera* L. Burn.) en ratas albinas. [tesis de título profesional]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; 2018.

10. Vargas Huyhua MP. Efecto cicatrizante de una crema de extracto hidroalcohólico de tallos de Huairuro (*Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks) y de pulpa de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) en ratones albinos. [tesis de título profesional]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; 2018.
11. Bejar Quispe A, Oncihuay Iriarte MI. Efecto sinérgico cicatrizante de los geles a base de los extractos hidroalcohólicos de pencas de tuna (*Opuntia ficus indica* (L) Mill) y hojas de ortiga (*Urtica urens*. L) en ratas albinas. [tesis de título profesional]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; 2018.
12. Ibazeta Alvarado CF, Pimentel Chávez YG. Efecto cicatrizante del gel a base de *Musa acuminata* Colla (cáscara de plátano) en heridas superficiales inducidas en ratones albinos. [tesis de título profesional]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; 2018.
13. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica: Métodos de estudios de productos naturales. 3ed. Lima: Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.
14. Bravo L. Farmacognosia. 1ed. Madrid: Elsevier; 2003.
15. Poma E, Requis E, Gordillo G, Fuertes C. Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata* L. (Guanábana) de Cuzco. *Ciencia e Investigación FyB-UNMSM*. 2011 [acceso: 12/07/2019]; 14(2): 29-33. Disponible en:
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/31-68/2642>
16. Velasquez RAC. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial-Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Seúl, octubre de 2008. *Journal of Oral Research*. 2013 [acceso: 12/07/2019]; 2(1): 42-4. Disponible en:
<https://www.joralres.com/index.php/JOR/article/view/joralres.2013.009/37>
17. Hartung T. Comparative analysis of the revised directive 2010/63/EU for the protection of laboratory animals with its anti-inflam 86/609/EEC-a t4 report. *ALTEX* 27. 2010 [acceso: 12/07/2019];4(10):285-303. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/49760713_Comparative_Analysis_of_the_Revised_Directive_201063EU_for_the_Protection_of_Laboratory_Animals_with_its_Predecessor_86609EEC_-_a_t4_Report

18. Presidencia de la República. Ley N°27265: Ley de protección a los animales domésticos y a los animales silvestres mantenidos en cautiverio. [acceso: 15/05/2019]. Disponible en:
https://perso.unifr.ch/derechopenal/assets/files/legislacion/1_20151208_02.pdf
19. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD). Guidelines for testing of chemicals N° 423. Acute Toxic Class Method. [acceso: 15/05/2019]. Disponible en:
https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oced/oced_g1423.pdf
20. Nayak B. Cecropia peltate L (Cecropiaceae) has wound- healing potential: A preclinical study in a Sprague Dawley rat model. Department of Preclinical Sciences. The International Journal of Lower Extremity Wounds. 2006 [acceso: 15/05/2019]; 5(1): 20-26. Disponible en:
<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1534734606286472>
21. Condori Huancacuri LB. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de la raíz de Ranunculus praemorsus H.B.K ex DC, en lesiones inducidas en ratas [tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2018.
22. Kupeli E, Suntar I, Fafal T. Wound healing and anti-inflammatory properties of Ranunculus pedatus and Ranunculus constantinopolitanus: a comparative study. Journal of Ethnopharmacology. 2012 [acceso: 15/05/2019];139(2):478-484. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22143152>
23. Valencia C. Cicatrización: Proceso de reparación tisular, aproximaciones terapéuticas. Investigaciones Andina. 2010 [acceso: 15/05/2019]; 12(20): 85-98. Disponible en:
<https://www.scielo.org.co/pdf/inan/v12n20/v12n20a08.pdf>
24. Santamaría Bedón EJ. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Malva (Malva sylvestris L.) y Aguacate (Persea americana) en ratones (Mus musculus) [tesis de título profesional]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias; 2013.
25. Prado Huamaní I. Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de Agave americana "Cabuya" [tesis de título profesional]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ciencias de la Salud; 2015.
26. Martínez S, Gonzáles J, Culebras J, Tuñón J. Los Flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. 2002 [acceso: 15/05/2019]; 6(17): 271-278. Disponible en:
<https://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

27. Soriano M, Bonilla P, Arroyo J. Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed. *Folia dermatológica peruana*. 2004 [acceso: 15/05/2019]; 15(3): 155-159. Disponible en:
https://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/fofia/Vol15_N3/pdf/a04.pdf
28. Ambiga S, Narayanan R, Gowri D, Sukumar D, Madhavan S. Evaluation of wound healing activity of flavonoids from *Ipomoea carnea* Jacq. *Anc Sci Life*. 2007 [acceso: 15/05/2019]; 26(3): 45-51. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3330873/pdf/ASL-26-45.pdf>
29. Cuba J, Villanueva C, Mendoza J. Efecto cicatrizante de la savia de "plátano" *Musa balbisiana* Colla, en ratas albinas holtzmann inducidas a úlcera gástrica. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2007;68(Supl 1):82.
30. Mendoza Elías NA, Chávez Lozada JL. Efecto cicatrizante del Gel elaborado a partir de la combinación del Aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) y el extracto metanólico del látex de *Ficus insípida* Willd (Ojé) en heridas inducidas en ratones albinos [tesis de título profesional]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; 2019.
31. Kapu S, Ngwai Y, Kayode O, Akah P, Wambebe C, Gamaniel K. Antiinflammatory, analgesic and antilymphocytic activities of the aqueous extrac of *Crinum giganteum*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2001 [acceso: 15/05/2019]; 78(1):7-13. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11585682>

Conflictos de intereses

Los investigadores manifiestan no tener conflictos de interés.

Contribuciones de los autores

Héctor Vélchez Cáceda: colaboró con formular y diseñar la investigación, toma de muestra, estudio y exégesis de la información, escritura del artículo, verificación y juicio del manuscrito, y avalar la versión a publicar.

Miguel Angel Inocente Camones: participó en la evaluación fitoquímica de las especies vegetales y evaluación de la actividad cicatrizante; así como el manejo de las muestras; escritura y valoración del artículo final.

Óscar Flores López: participó en la evaluación de la actividad cicatrizante y el manejo de las muestras; escritura y valoración del artículo final.