



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

## **“COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO DE HOJAS DE LENGUA DE VACA (*Rumex crispus*) EN HERIDAS INDUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)”**

Trabajo de titulación presentado para optar el grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: ANDREA CRISTINA BARRENO HEREDIA**

**TUTORA: DRA SUSANA ABDO**

**RIOBAMBA-ECUADOR**

**2016**

©2015, Andrea Cristina Barreno Heredia

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación: **“COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO DE HOJAS DE LENGUA DE VACA (*Rumex crispus*) EN HERIDAS INDUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)”** de responsabilidad del señorita egresada Andrea Cristina Barreno Heredia, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dra. Susana Abdo <b>DIRECTOR DE TESIS</b>	_____	_____
B.Q.F Fausto Contero <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	_____	_____
Dra. María Eugenia Macas <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	_____	_____
<b>DOCUMENTALISTA</b> <b>SISBIB-ESPOCH</b>	_____	_____
<b>NOTA DE TRABAJO DE</b> <b>TITULACIÓN ESCRITA</b>	_____	

Yo, **Andrea Cristina Barreno Heredia**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de Titulación; y el patrimonio intelectual del trabajo de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

---

**ANDREA CRISTINA BARRENO HEREDIA**

## **DEDICATORIA**

Quiero dedicar este trabajo a Dios por darme salud, fuerza y la sabiduría necesaria para culminar con mi vida estudiantil. A mis Padres por haberme dado la vida porque me enseñaron que por más lejos que se encuentre la meta con constancia, dedicación y amor a lo que hago siempre lograré lo que me proponga, su apoyo fue muy importante para concluir mi carrera. A mi hermano por estar pendiente todos estos años durante mi carrera, por darme ánimos, por estar a mi lado que fue lo más valioso para que nunca dejara de luchar. A mi sobrino por ser mi luz y mis ganas de vencer cada obstáculo, mi gran motivación porque en cada tropezón siempre estuviste presente en mi mente y esa fue la razón para que nunca decaiga y vuelva con más fuerzas y ganas de continuar hasta el final. A mis abuelos tíos, por su colaboración durante el transcurso de mi investigación.

Andrea.

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar agradecer a Dios por brindarme vida y sabiduría para poder culminar mi carrera. A mi familia a mis padres y mi hermano por apoyarme durante mi vida estudiantil, por ser mi motivación para salir adelante y estar siempre a mi lado hasta culminar esta etapa, por cada palabra de aliento que fue mi fortaleza para llegar a culminar una de mis metas.

A cada uno de los docentes de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por brindarme la guía y los conocimientos necesarios para que mi formación académica sea de calidad. A la Doctora Susana Abdo y BQF. Fausto Contero por haberme brindado su apoyo y asesoramiento durante la realización de la investigación al Doctor Javier Robles por su colaboración en la realización del análisis histopatológico.

Andrea.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	<b>Páginas</b>
DERECHO DEL AUTOR.....	ii
CERTIFICACIÓN.....	iii
DECLARACION DE RESPONSABILIDAD.....	iv
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>v</b>
<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO .....</b>	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>xi</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.....</b>	<b>xiv</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS.....</b>	<b>xv</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS .....</b>	<b>xvi</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>xix</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>xx</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>5</b>
<b>1 MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1 Fisiología de la piel.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.1 Epidermis.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.2 Dermis .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.2.1 Elementos celulares de la dermis .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.3 Hipodermis .....</b>	<b>7</b>
<b>1.2 Definición de Heridas .....</b>	<b>8</b>
<b>1.2.1 Anatomía patológica y clasificación .....</b>	<b>8</b>
<b>1.4.1.1 Escoriación.....</b>	<b>8</b>
<b>1.4.1.2 Heridas punzantes .....</b>	<b>8</b>
<b>1.4.1.3 Heridas incisas. ....</b>	<b>9</b>
<b>1.4.1.4 Heridas contusas. ....</b>	<b>9</b>
<b>1.4.1.5 Heridas venenosas .....</b>	<b>9</b>
<b>1.3 Estudio clínico.....</b>	<b>9</b>
<b>1.4 Cicatrización .....</b>	<b>10</b>
<b>1.4.1 Etapas de Cicatrización .....</b>	<b>11</b>

1.4.1.1	<i>La fase inflamatoria</i> .....	11
1.4.1.2	<i>La fase proliferativa</i> .....	11
1.4.1.3	<i>La fase de maduración</i> .....	11
<b>1.4.2</b>	<b><i>Tipo de cicatrización</i></b> .....	<b>12</b>
1.4.2.1	<i>Cicatrización por primera intención</i> .....	12
1.4.2.2	<i>Cicatrización por segunda intención</i> .....	12
1.4.2.3	<i>Cicatrización por tercera intención</i> .....	13
<b>1.4.3</b>	<b><i>Factores que retrasan la cicatrización</i></b> .....	<b>13</b>
<b>1.5</b>	<b><i>Fármacos cicatrizantes</i></b> .....	<b>14</b>
<b>1.6</b>	<b><i>Fitomedicamentos</i></b> .....	<b>14</b>
<b>1.7</b>	<b><i>Fitoterapia</i></b> .....	<b>15</b>
<b>1.8</b>	<b><i>Fitofármacos</i></b> .....	<b>15</b>
<b>1.8.1</b>	<b><i>Tratamiento Tópico</i></b> .....	<b>16</b>
<b>1.8.2</b>	<b><i>Penetración por vía tópica</i></b> .....	<b>17</b>
<b>1.9</b>	<b><i>Lengua de vaca (<i>Rumex crispus</i>)</i></b> .....	<b>17</b>
<b>1.9.1</b>	<b><i>Nombre común</i></b> .....	<b>17</b>
<b>1.9.2</b>	<b><i>Descripción botánica</i></b> .....	<b>17</b>
<b>1.9.3</b>	<b><i>Hábitat</i></b> .....	<b>18</b>
<b>1.9.4</b>	<b><i>Distribución</i></b> .....	<b>18</b>
<b>1.9.5</b>	<b><i>Clasificación científica</i></b> .....	<b>18</b>
<b>1.9.6</b>	<b><i>Propiedades</i></b> .....	<b>18</b>
<b>1.9.7</b>	<b><i>Composición química</i></b> .....	<b>19</b>
<b>1.9.8</b>	<b><i>Usos medicinales</i></b> .....	<b>19</b>
<b>1.9.9</b>	<b><i>Acciones farmacológicas</i></b> .....	<b>19</b>
1.9.9.1	<i>Efectos Secundarios</i> .....	20
1.9.9.2	<i>Precauciones/ Intoxicaciones</i> .....	20
1.9.9.3	<i>Alergias</i> .....	20
<b>1.10</b>	<b><i>Metabolitos secundarios que contribuyen a la cicatrización</i></b> .....	<b>21</b>
<b>1.10.1</b>	<b><i>Flavonoides</i></b> .....	<b>21</b>
1.10.1.1	<i>Clasificación de los flavonoides</i> .....	22
1.10.1.1.1	<i>Flavonas</i> .....	22
1.10.1.1.2	<i>Flavonoles</i> .....	22
1.10.1.1.3	<i>Flavanonas</i> .....	22
<b>1.10.2</b>	<b><i>Aplicaciones de los flavonoides</i></b> .....	<b>23</b>
<b>1.10.3</b>	<b><i>Taninos</i></b> .....	<b>23</b>
1.10.3.1	<i>Aplicaciones de los taninos</i> .....	24



<b>1.11</b>	<b>Animales de laboratorio</b> .....	24
<b>1.11.1</b>	<b>Ratones de laboratorio</b> .....	24
<b>CAPÍTULO II</b> .....		<b>26</b>
<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....		<b>26</b>
<b>2.1</b>	<b>Lugar de investigación</b> .....	<b>26</b>
<b>2.2</b>	<b>Materiales, equipos y reactivos</b> .....	<b>26</b>
<b>2.2.1</b>	<b>Materia prima</b> .....	<b>26</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Reactivo biológico</b> .....	<b>26</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Descripción</b> .....	<b>26</b>
<b>2.2.4</b>	<b>Materiales y equipos</b> .....	<b>27</b>
<b>2.3</b>	<b>Técnicas y métodos</b> .....	<b>28</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Control de calidad de la droga cruda</b> .....	<b>28</b>
<b>2.3.1.1</b>	<b>Contenido de humedad</b> .....	<b>28</b>
<b>2.3.1.2</b>	<b>Determinación de cenizas totales</b> .....	<b>29</b>
<b>2.3.1.3</b>	<b>Cenizas solubles en agua</b> .....	<b>29</b>
<b>2.3.1.4</b>	<b>Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico</b> .....	<b>29</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Control de calidad del extracto</b> .....	<b>29</b>
<b>2.3.2.1</b>	<b>Determinación de los requisitos organolépticos</b> .....	<b>29</b>
<b>2.3.2.2</b>	<b>Determinación de la densidad relativa</b> .....	<b>30</b>
<b>2.3.2.3</b>	<b>Determinación del índice de refracción</b> .....	<b>30</b>
<b>2.3.2.4</b>	<b>Determinación del pH de extractos y tinturas</b> .....	<b>30</b>
<b>2.3.2.5</b>	<b>Determinación de los sólidos totales</b> .....	<b>30</b>
<b>2.3.2.6</b>	<b>Análisis Microbiológico</b> .....	<b>30</b>
<b>2.4</b>	<b>Tamizaje fitoquímico</b> .....	<b>31</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Ensayo de Dragendorff</b> .....	<b>31</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Ensayo de Mayer</b> .....	<b>31</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Ensayo de Wagner</b> .....	<b>31</b>
<b>2.4.5</b>	<b>Ensayo de Baljet</b> .....	<b>32</b>
<b>2.4.6</b>	<b>Ensayo de Sudán III</b> .....	<b>32</b>
<b>2.4.7</b>	<b>Ensayo de Borntrager</b> .....	<b>32</b>
<b>2.4.8</b>	<b>Ensayo de catequina</b> .....	<b>32</b>
<b>2.4.9</b>	<b>Ensayo de saponinas</b> .....	<b>33</b>
<b>2.4.1.0</b>	<b>Ensayo de cloruro férrico</b> .....	<b>33</b>
<b>2.4.2.0</b>	<b>Ensayo de Shinoda</b> .....	<b>33</b>
<b>2.4.3.0</b>	<b>Ensayo de Baljet:</b> .....	<b>33</b>

2.4.4.0	<i>Ensayo del cloruro férrico</i> .....	33
2.4.5.0	<i>Ensayo de Shinoda</i> .....	34
2.4.6.0	<i>Ensayo de Fehling</i> .....	34
2.4.7.0	<i>Ensayo de mucílagos</i> .....	34
2.4.8.0	<i>Ensayo de principios amargos y astringentes</i> .....	34
2.5	<b>Cromatografía de capa fina (TLC)</b> .....	34
2.5.1.0	<b>Cromatografía del extracto de <i>Rumex crispus</i></b> .....	34
2.6	<b>Cuantificación de flavonoides totales</b> .....	35
2.7	<b>Determinación de fenoles totales</b> .....	35
2.8	<b>Protocolo farmacológico</b> .....	36
2.9	<b>Actividad cicatrizante en los ratones</b> .....	37
2.10	<b>Análisis histopatológico</b> .....	37
2.11	<b>Análisis estadístico</b> .....	37
 <b>CAPITULO III</b> .....		<b>38</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....		<b>38</b>
3.1.	<b>Control de calidad</b> .....	<b>38</b>
3.2.	<b>Identificación de metabolitos secundarios</b> .....	<b>42</b>
3.3.	<b>Cuantificación de metabolitos secundarios</b> .....	<b>45</b>
3.4.	<b>Actividad cicatrizante del extracto de hojas de <i>Rumex crispus</i></b> .....	<b>46</b>
3.5.	<b>Realización del análisis histopatológico del tejido cicatricial</b> .....	<b>47</b>
3.6.	<b>Análisis estadístico</b> .....	<b>50</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....		<b>52</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....		<b>53</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		
<b>ANEXOS</b>		

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Clasificación científica de la especie <i>Rumex crispus</i> .....	18
<b>Tabla 2-1:</b>	Taxonomía del ratón de laboratorio.....	25
<b>Tabla 1-2:</b>	Lista de materiales y equipos utilizados en la investigación.....	27
<b>Tabla 2- 2:</b>	Lista de reactivos utilizados en la investigación de la comprobación de la actividad cicatrizante del extracto de hojas de <i>Rumex crispus</i> .....	28
<b>Tabla 3 -2:</b>	Esquema de tratamientos para la actividad cicatrizante.....	36
<b>Tabla 1-3:</b>	Control de calidad de las hojas secas de <i>Rumex crispus</i> . Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba Octubre 2015.....	38
<b>Tabla 2 -3:</b>	Características organolépticas del extracto de hojas de <i>Rumex crispus</i> . Realizado en el laboratorio de Productos Naturales. ESPOCH. Riobamba Octubre 2015.....	39
<b>Tabla 3 -3:</b>	Control de calidad del extracto de hojas de <i>Rumex crispus</i> . Realizado en el laboratorio de Productos Naturales. ESPOCH. Riobamba Octubre 2015.....	39
<b>Tabla 4 -3:</b>	Tamizaje fitoquímico del extracto de hojas de <i>Rumex crispus</i> . Realizado en el laboratorio de productos naturales. ESPOCH. Riobamba Octubre 2015.....	40
<b>Tabla 5 -3:</b>	Control microbiológico del extracto de hojas de <i>Rumex crispus</i> . Realizado en el laboratorio de microbiología. ESPOCH. Riobamba Octubre 2015.....	42

<b>Tabla 6 -3:</b>	Rf obtenidos del extracto de hojas de <i>Rumex crispus</i> . Realizado en el laboratorio de productos naturales. Facultad de Ciencias ESPOCH. Riobamba Noviembre 2015.....	43
<b>Tabla 7- 3:</b>	Actividad cicatrizante de la longitud en cm de la herida durante la aplicación del protocolo farmacológico. Realizado en el Bioterio. ESPOCH. Riobamba Noviembre 2015.....	46
<b>Tabla 8 -3:</b>	Análisis histopatológico de los seis grupos de investigación. Realizado en SOLCA Riobamba. Facultad de Ciencias ESPOCH. Riobamba Diciembre 2015.....	48
<b>Tabla 9 -3:</b>	Análisis estadístico con programa SPSS de los resultados obtenidos, tratamientos utilizados con respecto a la velocidad de cicatrización.....	50
<b>Tabla 10 -3:</b>	Análisis estadístico TUKEY con programa SPSS.....	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1 -1</b>	Estructura básica de los flavonoides.....	21
--------------------	---	----

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

<b>Fotografía 1 -3</b>	Cromatografía en capa fina (TLC) de extracto de hojas de <i>Rumex crispus</i> . Fase móvil: Acetato de etilo: Ácido Fórmico: ácido acético glacial: agua: N-metilisobutilcetona (6: 0,5: 0,5: 1: 4).....	42
<b>Fotografía 2 -3</b>	Análisis histopatológico de la calidad del tejido cicatricial de los mejores tratamientos obtenidos.....	49

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1- 3</b>	Diámetro de la herida versus la cicatrización con los diferentes tratamientos que se usó.....	47
---------------------	---	----

## ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo A :** Obtención de la especie *Rumex crispus*
- Anexo B :** Procesamiento de las hojas de *Rumex crispus*.
- Anexo C :** Control de calidad de la droga cruda.
- Anexo D :** Control de calidad del extracto
- Anexo E :** Procedimiento para hallar la presencia cualitativa de metabolitos secundarios en el extracto de hojas de *Rumex crispus*.
- Anexo F :** Procedimiento para la realización de cromatografía en capa fina del extracto de hojas de *Rumex crispus*
- Anexo G :** Cuantificación de metabolitos secundarios del extracto de hojas de *Rumex crispus* por espectrofotometría UV.
- Anexo H :** Ambientación de los ratones (*Mus musculus*) antes de la aplicación de los tratamientos.
- Anexo I :** Procedimiento para la inducción de la herida en los ratones
- Anexo J :** Aplicación de los extractos de hojas de *Rumex crispus* sobre la herida.
- Anexo K :** Primera aplicación de los extracto de hojas de *Rumex crispus* en las heridas inducidas.
- Anexo L :** Primer día de tratamiento con los controles utilizados de acuerdo con el protocolo farmacológico.
- Anexo M :** Tercer día de tratamiento cicatrización con los controles usados de acuerdo con el protocolo farmacológico usado.



- Anexo N :** Tercer día de tratamiento cicatrización con el extractos de hojas de *Rumex crispus*
- Anexo O :** Sexto día de tratamiento, cicatrización con los controles utilizados de acuerdo al protocolo farmacológico usado.
- Anexo P :** Sexto día de tratamiento, cicatrización con las diferentes concentraciones del extracto de hojas de *Rumex crispus*.
- Anexo Q :** Noveno día de tratamiento, cicatrización con los controles usados de acuerdo al protocolo farmacológico.
- Anexo R :** Noveno día de tratamiento, cicatrización con las diferente concentraciones del extracto de hojas de *Rumex crispus*.
- Anexo S :** Doceavo día de tratamiento, cicatrización con los controles usados de acuerdo al protocolo farmacológico.
- Anexo T :** Doceavo día de tratamiento, cicatrización con las diferentes concentraciones del extracto de hojas de *Rumex crispus*.
- Anexo U :** Día quince de tratamiento, cicatrización con los controles usados de acuerdo al protocolo farmacológico.
- Anexo V :** Cicatrización al día quince con la diferentes concentraciones del extracto de hojas de *Rumex crispus*.
- Anexo W :** Cortes histológicos realizados del lugar de cicatrización de la herida del dorso de los ratones.
- Anexo X :** Análisis histopatológico de los cortes realizados de cada tratamiento usado en el análisis observado en un microscopio con lente de 10X.
- Anexo Y :** Curva de calibración de la quercetina con interpolación del dato obtenido del extracto de *Rumex crispus*.

**Anexo Z :** Curva de calibración del ácido gálico con interpolación del dato obtenido del extracto de hojas de *Rumex crispus*.

## RESUMEN

Se comprobó la actividad cicatrizante del extracto de hojas de lengua de vaca (*Rumex crispus*) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*) para ello se realizó el control de calidad tanto de la droga seca como del extracto, el tamizaje fitoquímico indicó la presencia de flavonoides, taninos, antraquinonas. Se realizó cromatografía en capa fina para flavonoides. Se cuantificó por espectrofotometría UV la presencia de flavonoides totales expresados como quercetina, se obtuvo una concentración de 5,4 mg/g del extracto hidroalcohólico de hojas de *Rumex crispus*, en la cuantificación de fenoles totales se usó el método de Folin- Ciocalteu y se obtuvo una concentración de 7 mg/g que son expresados como ácido gálico (GAE). Para poder comprobar la actividad cicatrizante se usaron 24 ratones BALB/c divididos en 6 grupos de 4 cada uno, en el protocolo farmacológico usado fue control (-) al cual no se le aplicó ningún tratamiento, 2 controles (+) a los cuales se les aplicó sulfato de neomicina + acetato de prednisolona y alcohol al 40% respectivamente, Grupo 1 extracto de hojas de *Rumex crispus* al 25%, Grupo 2 extracto al 50% y finalmente al Grupo 3 extracto al 75%. Se observó que el extracto que tubo mejores resultados fue el grupo 3, en un lapso de 9 días se obtuvo una cicatrización así como también en el análisis histopatológico se obtuvo mejor calidad de tejido cicatricial. Se recomienda realizar esta investigación con mezclas de especies para de esta manera observar si potencian su efecto.

**PALABRAS CLAVE:** <CICATRIZACIÓN> <LENGUA DE VACA [*Rumex crispus*]>  
<TAMIZAJE FITOQUÍMICO> <ESPECTROFOTOMETRÍA UV> < FLAVONOIDES> <  
FENOLES> <RATONES [*Mus musculus*]> < FARMACOLOGÍA>

## SUMMARY

The healing activity of the ox-tongue leaf extract (*Rumex crispus*) in wounds induced in mice (*Mus musculus*) was proved, for which the quality control of both the dry drug and the extract was performed, phytochemical screening determined the presence of flavonoids, tannins, anthraquinones. Thin layer chromatography for flavonoids was carried out. By UV spectrophotometry the presence of total flavonoids expressed as quercetina was quantified; a concentration of 5.4 mg/g of leaves hydroalcoholic extract of *Rumex crispus* was obtained; in quantification of total phenols the Folin- Ciocalteu method was used and a concentration of 7 mg/g are expressed as gallic acid (GAE) was obtained. To be able to check the healing activity 24 BALB/c mice divided into 6 groups of 4 each were used; drug protocol used was (-) control on which no treatment was applied, 2 controls (+) to which was applied neomycin sulfate + prednisolone acetate alcohol and 40% respectively, Group 1 leaf extract *Rumex crispus* 25%, Group 2 extract at 50% and finally Group 3 extract at 75%. It was observed that the extract that provided best results was the one of Group 3, in 9 days healing appeared as well as the histopathological analysis better quality of scar tissue was obtained. It is recommended this research to be done with mixtures of species to thereby observe whether enhance the effect.

**KEYWORDS:** <HEALING> <OX-TONGUE [*Rumex crispus*]> <PHYTOCHEMICAL SCREENING> <UV SPECTROPHOTOMETRY> <FLAVONOIDS> <PHENOLS> <MICE [*Mus musculus*]> <PHARMACOLOGY>

## INTRODUCCIÓN

Gracias a la tradición que se ha tenido sobre la medicina popular se sabe que el hombre desde hace mucho tiempo atrás ha conocido y aprovechado la actividad curativa de un sinnúmero de hierbas. A pesar de los avances en la producción de la medicina “moderna”, las plantas medicinales hoy en día no han perdido la importancia que poseen. El desarrollo de nuevos medicamentos ha sido el resultado de aprovechar los beneficios que brindan estas plantas medicinales y en su mayoría el uso como materia prima para la producción de nuevos medicamentos. (Hoogesteger, 1994, p. 9)

En Ecuador, las plantas medicinales han constituido uno de los principales recursos existentes que se usan en el ámbito de la fitoterapia. Dado el acervo del conocimiento ancestral y su grado de extensión, estos vegetales se utilizan tanto en las poblaciones urbanas y rurales. La cultura milenaria ecuatoriana desde tiempos inmemoriales ha utilizado las plantas según sus cualidades, entre ellos, citamos a plantas cálidas, plantas frescas, medicinales y nutritivas. (Tazto, A., Rodríguez, G. 1992 p. 11)

En el Ecuador el uso de plantas medicinales está inmerso en la cotidianidad de sus habitantes. La medicina popular se practica principalmente por habitantes de zonas rurales, pero también por ciudadanos de toda clase social. Se pueden encontrar gran variedad de plantas con usos medicinales que se expenden en mercados de la Sierra, Costa y Amazonía (Ortega 1988, Cerón & Gaybor 1994, Cerón & Montalvo 1994, Cerón & Reina 1996, Bailey 1999, Montalvo & Cerón 2003, Bussmann & Sharon 2006).

Entre las causas por las que se enfatiza el amplio uso de plantas medicinales en los ecuatorianos se considera el reducido poder de adquisición a medicamentos, bajo nivel del sistema oficial de salud que sea efectivo y, especialmente, el conocimiento médico ancestral es enorme. (Estrella 1995, Buitrón 1999 p 35).

Al analizar la utilización de plantas medicinales a nivel de los grupos étnicos del Ecuador, los Kichwa del Oriente presentan un elevado número de especies medicinales (26%), la sucesión por los Kichwa de la Sierra (18%) y los mestizos (14%). (De la Torre, et al., 2008, p. 108)

Para tratar heridas y lesiones incluyeron el 17% de plantas medicinales. Entre las familias más representativas se encontraron: Asteraceae, Solanaceae y Euphorbiaceae. Estas especies que se

mencionaron favorecen una rápida cicatrización, sobre todo de heridas a causa de objetos cortopunzantes. (De la Torre, et al., 2008, p. 108)

La historia que tiene una herida nos va a permitir conocer si hay posibles inconvenientes ya sea por una contaminación e infección, el principal factor es el tiempo de evolución de la herida debido a que si el tiempo que transcurre en la limpieza es largo, hay mayor riesgo de que se presente una proliferación bacteriana y complicaciones en la cicatrización de la herida. (Álvarez & Álvarez, 2014, p. 6)

Las plantas para tratar infecciones e infestaciones constituyen el 26% del total de especies medicinales. En esta categoría se incluyeron las especies utilizadas para tratar afecciones causadas por bacterias, virus, hongos, protozoos, platelmintos, nemátodos, anélidos y artrópodos. Familias con gran número de registros fueron Asteraceae, Solanaceae y Fabaceae. Las plantas que tratan infecciones causadas por virus y bacterias son las más comunes (63%), entre ellas se cuentan las utilizadas para curar abscesos con pus, gonorrea, herpes, sarampión, erisipela, neumonías y otras enfermedades infectocontagiosas. (De la Torre, et al., 2008, p. 111)

Dentro de los factores que influyen en el tiempo de cicatrización de una herida tenemos a la exposición prolongada de estrés que conlleva a cambios en el funcionamiento del sistema inmunológico y con ello la prolongación del tiempo de cicatrización de heridas, por ello es que se necesita recurrir a un tratamiento para la cicatrización de las heridas debido a que si no se toman los cuidados necesarios puede traer complicaciones. (Gómez & Escobar, 2006, p. 35)

Las heridas así como también las úlceras por presión son mediadores de calidad de los cuidados que se tuvo. Las cifras de prevalencia de las úlceras por presión de acuerdo a un estudio realizado en España arrojó un porcentaje de 8,4% en pacientes hospitalizados, 8,3 en pacientes ambulatorios y un 6,4 en pacientes que se encuentran en residencias sociosanitarias. Esta situación no se encuentra tan alejada en otros países ya que de acuerdo a la prevalencia e incidencia se hallan en un 3% y 30% y el 1% y 50%, respectivamente. Por ello es necesario monitorizar y valorar el progreso para conseguir una cicatrización efectiva.

(Restrepo, et al., 2011, pp. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1134-928X2011000100006](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-928X2011000100006)).

Dentro de los tratamientos usados para tratar heridas tenemos que a lo largo del tiempo se han desarrollado varios fármacos utilizados con el fin de cicatrizar heridas, desde plantas como el matico, o la sábila, hasta medicamentos actuales como el  $\beta$ sitosterol, corticoides, combinaciones con antiinflamatorios y antimicrobianos. El desarrollo de todo lo mencionado se debió a que en gran parte una herida podía constituirse mortal sin un tratamiento adecuado, no de forma

directa, sino indirectamente debido al riesgo de infección que podría existir. (Bombardelli, E, et al. 2002 p. 2).

Los fármacos con actividad cicatrizante que existen en la actualidad realizan su efecto estimulando el proceso regenerativo del área afectada, o mantienen las condiciones adecuadas para que se produzca una cicatrización natural, este es el caso de los medicamentos de acción tópica, que contienen en su mayoría colágeno con combinaciones antibióticas, para reducir el peligro de infecciones. (Bombardelli, E, et al. 2002 p. 2).

*Rumex crispus* las hojas y semillas así como el extracto etanólico de las hojas habían mostrado actividades antimicrobianas en *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. (Yıldırım, et al., 2001, p. 4085). Las hojas se utilizaban contra la diabetes, dolor de estómago y dolores abdominales, estreñimiento, edema, amigdalitis, aterosclerosis, cicatrización de heridas, bocio, las hemorroides; como laxante. (Özgen, et al., 2012, p. 100)

En un estudio se demostró que la especie *Rumex abyssinicus* facilita la cicatrización de heridas, además de poseer una actividad antiinflamatoria. (Mulisa, 2011, pp. 14-17). Esta es una de las plantas medicinales que se encuentran en un grupo que poseen propiedades cicatrizantes, y fue demostrada en modelos animales como los ratones, obtuvieron buenos resultados en el tiempo de cicatrización de la herida que fue inducida en los ratones. (Borkar, et al., 2015, pp. 116-123)

En un estudio para demostrar la actividad cicatrizante en conejos de la especie *Rumex vesicarius* puede ser usado como medicina alternativa para el cuidado de la herida, ya que en este estudio existió una buena cicatrización con la aplicación de extracto alcohólico de esta especie en heridas que indujeron en conejos. (Aziz, et al., 2015, pp. 60-64)

Según Rodríguez en un ensayo donde se utilizó el extracto etanólico de *Rumex lunaria L* a dosis bajas (220mg), mostró una elevada capacidad de reparación tisular, tanto histológico como en la disminución del tiempo de cicatrización, para comprobar esto indujeron heridas cutáneas en el animal de experimentación. (Rodríguez de Vera, et al., 2007, pp. 33-35)

El uso del extracto de hojas de *Rumex crispus* para la cicatrización de heridas, se debe a la presencia de compuestos o metabolitos secundarios que están presentes en esta planta medicinal y que por poseer flavonoides intervienen en la cicatrización de las heridas así como también en la regeneración de los tejidos. De este modo poder brindar un tratamiento que esté al alcance de las personas y que sea asequible.

Con este proyecto se presenta una nueva alternativa para disminuir los días de una cicatrización que dura 14 días con una cicatrización normal y sin aplicación de tratamientos, lo que se pretende con la aplicación de extractos de plantas medicinales es disminuir los días de cicatrización y que la calidad del tejido cicatricial sea de calidad aprovechando de las bondades que nos brindan las plantas medicinales de nuestro país.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Comprobar la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de lengua de vaca (*Rumex crispus*) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*).

### **Objetivos específicos**

1. Realizar el control de calidad tanto de la droga seca como también del extracto de hojas de lengua de vaca (*Rumex crispus*).
2. Hallar cualitativamente mediante un tamizaje fitoquímico los metabolitos presentes en el extracto de hojas de lengua de vaca (*Rumex crispus*).
3. Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto de hojas de lengua de vaca (*Rumex crispus*) mediante cromatografía de capa fina.
4. Cuantificar mediante espectrofotometría UV la concentración de flavonoides y fenoles totales del extracto de hojas de lengua de vaca (*Rumex crispus*).
5. Determinar en base a protocolos farmacológicos experimentales la actividad cicatrizante del extracto de hojas de lengua de vaca (*Rumex crispus*).
6. Conocer mediante un análisis histopatológico la calidad del tejido cicatricial de los grupos usados en el protocolo farmacológico.



# CAPÍTULO I

## 1 MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

### 1.1 Fisiología de la piel

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, el cual ocupa aproximadamente el 20% del peso del cuerpo humano cuya principal función es resguardar al cuerpo de las radiaciones solares, microorganismos, y factores externos que le puedan ocasionar algún daño al cuerpo. También este órgano brinda interrelación ya que provee sensibilidad y es posible conseguir todos los estímulos proporcionados por el medio que los rodea. (Hidalgo, 2010, p. 17)

La piel posee tres capas, entre ellas están: Epidermis, dermis e hipodermis, cuyo espesor varía de acuerdo a la ubicación, así tenemos que la piel de la zona plantar es mucho más gruesa, y la piel de párpados es muy delgada, de manera que existe una variación de 1 a 4 mm.

#### 1.1.1 *Epidermis*

Es la capa más superficial, y se encuentra formada por tipos celulares así como: Queratinocitos, que constituyen entre el 90 a 95%, Células de Langerhans, que constituyen del 5 al 10%, los Melanocitos y las Células de Merkel. Estructuralmente la epidermis está conformada por 4 capas en donde tenemos: Estrato basal, estrato espinoso (o de Malpighi), Estrato granuloso y Estrato corneo.

En la piel de la zona palmo plantar se complementa con un estrato añadido que se encuentra entre el estrato granuloso y corneo, y este toma el nombre de estrato lúcido. En la epidermis hay dos unidades estructurales diferentes que son: El Acrosiringium, parte superficial de las glándulas ecrinas y el Acrotrichium, parte superficial del folículo piloso. (Carranza., 2010, p. 3)

Queratinocitos: Se producen en las células madre de la capa basal, migrando hacia la superficie en un proceso tanto de modificación como de cambios morfológicos y bioquímicos a los que se les conoce como queratinización, este proceso dura aproximadamente 30 días. Los queratinocitos tienen un cito-esqueleto hecho a base de queratinas. Las queratinas (unas 20) se han clasificado por su peso molecular y pH. Las de bajo peso molecular o también conocidas

como ácidas, Tipo I: K9 a K20, y las de alto peso molecular o también llamadas neutrales-básicas, Tipo II: K1 a K8. (Carranza., 2010, p. 4)

Células de Langerhans (LC): Estas son células móviles, dendríticas, histiocíticas, que se las encuentra en las capas más elevadas del estrato espinoso, están implicados en procesos antigénicos e inmunoestimuladores de los tipos de linfocitos T y B. (Carranza., 2010, p. 6)

Melanocitos: Son células dendríticas que proceden de la cresta neural. Estas células producen melanina. Mediante la metabolización del aminoácido tirosina mediante una serie de pasos se convertirá en eumelanina o conocida como melanina normal y/o feomelanina. (Carranza., 2010, p. 7)

Células de Merkel: Se encuentran en el estrato basal epidérmico, se las puede observar por microscopía electrónica, y posee una gran relación con axones sensoriales, estas células se hallan en zonas como el pulpejo de los dedos, mucosa oral y folículo piloso. (Carranza., 2010, p. 10)

### **1.1.2 Dermis**

La dermis es el tejido conectivo elástico el cual soporta a la epidermis y sus apéndices. A través de este tejido se encuentran plexos sanguíneos y nerviosos, se halla formada por células, moléculas fibrosas y sustancia fundamental. Su grosor va variar de acuerdo a donde se halla ubicada así tenemos, que es menor en los párpados y mayor en la región palmo-plantar.

- Dermis superficial o papilar: Está elevada en las papilas y se halla en relación con la epidermis, en ella se encuentra tejido conectivo laxo con haces de colágeno delgados y fibras elásticas, también contiene fibroblastos, dendrocitos dermales y mastocitos así como terminaciones nerviosas al igual que vasculares. Además se hallan en este tejido corpúsculos táctiles mecanoreceptores.

- Dermis profunda o reticular: Esta formada por tejido conectivo denso con haces de colágeno y fibras elásticas gruesas; contiene las partes profundas tanto de apéndices cutáneos, plexos nerviosos así como vasculares. (Carranza., 2010, p. 16)

### *1.1.2.1 Elementos celulares de la dermis*

Fibroblastos: Son células esenciales del tejido dérmico y conectivo, compendian todo tipo de fibras y sustancia de “cemento” intercelular. (Carranza., 2010, p. 17)

Mastocitos: Son células mononucleares, conocidas también como células cebadas, estas son producidas por la médula ósea y son distribuidas en la dermis perivascular. Dentro de las principales características se encuentran un núcleo central con citoplasma rico en histamina, heparina, serotonina estos mediadores son liberados en presencia de una reacción alérgica tipo I al interactuar el complejo antígeno-anticuerpo sobre la superficie del mastocito. Estas células en presencia de reacciones alérgicas, inflamatorias y en procesos de defensa ante bacterias, parásitos poseen una alta participación en estos procesos. (Carranza., 2010, p. 17)

Vascularización de la piel: La epidermis es avascular y a pesar de esto la piel tiene una red vascular rica, esto se debe a que está envuelta en procesos de termorregulación, cicatrización de heridas, reacciones inmunes así como el control de la presión arterial. La piel es la que toma el riego sanguíneo de vasos del tejido conectivo subcutáneo y músculo formando lo que se conoce como plexos horizontales los cuales se comunican a través de vasos que cruzan la dermis perpendicularmente, estos plexos son los siguientes:

-Plexo profundo: Próximo a la unión dermal – hipodermal, proporciona nutrición a estructuras profundas como es el caso de las glándulas sudoríparas y folículos. Está conformado por pequeñas arterias y venas subcutáneas de las que surgen arteriolas y vénulas (plexo) y después las arteriolas y vénulas comunicantes que se destinan al plexo superficial. (Carranza., 2010, p. 18)

-Plexo superficial: Próximo al límite que se encuentra entre la dermis papilar y reticular, forma el plexo que se encuentra en zona sub papilar de donde emite ramas ascendentes capilares hacia las papilas. En el extremo de las papilas dérmicas se origina lo que se conoce como “loop” capilar en donde se conecta el capilar arterial con el venoso. (Carranza., 2010, p. 18)

### *1.1.3 Hipodermis*

Es la parte más profunda de la piel, está formada por tejido adiposo cuyas células son los adipocitos. Se hallan asociados a manera de compartimentos trabeculados compuestos por septos que poseen fibroblastos, dendrocitos y mastocitos. Los adipocitos poseen un gran interés ya que aparte de ser una gran reserva de energía y protección mecánica frente a traumas es un

elemento con actividad endócrina y termorreguladora. En general el adipocito es una fuente abundante de moléculas que van a la circulación y operan como mensajeros, moduladores y reguladores de varias reacciones que ocurren a nivel hepático, cerebral, muscular, inmunitario, de coagulación de la sangre y actividad vascular, órganos reproductores, desarrollo de resistencia a la insulina. Los mensajeros procedentes de los adipocitos toman la denominación común de adipocitoquinas o adipocinas. (Carranza., 2010, p. 21)

## **1.2 Definición de Heridas**

Se conoce como herida a la pérdida de la continuidad de la piel o mucosas que produce una complicación en cuanto a la estructura del tejido y una comunicación entre el interior y exterior del organismo, además pérdida de sustancias por algún agente físico o químico. Esta herida si no tiene una correcta desinfección, se puede presentar inconvenientes como infección. (Aliaga & Camps, 2005, pp. 8-14)

### ***1.2.1 Anatomía patológica y clasificación***

#### ***1.4.1.1 Escoriación***

Es una solución que posee una continuación lineal, comúnmente múltiple que produce una lesión en la epidermis y se presenta una exhibición del cuerpo mucoso de Malpighi, pérdida de sangre pequeñas.

#### ***1.4.1.2 Heridas punzantes***

Este tipo de heridas se las produce por traumatismos con material puntiagudo que crean soluciones de secuencia mínima, suele ser superada por la profundidad anatómica que alcanza así por ejemplo tenemos punciones pleurales, por agujas.

Pueden mostrar sangrado en la profundidad de la herida, y va a depender del área anatómica en donde se ubica la herida punzante, se tiene un riesgo elevado cuando el agente traumático deposita en el área afectada gérmenes los que pueden llegar a proliferar si se encuentran en condiciones óptimas.

Si ocurre una herida punzante de forma accidental, posterior al ingresar a las partes blandas puede pasar cavidades orgánicas.

#### ***1.4.1.3 Heridas incisas.***

Son aquellas heridas de continuidad nítida, de bordes usuales, limpios, y bien determinados. Se encuentra en dos dimensiones como son la extensión y profundidad. La longitud del corte en la superficie supera la profundidad de la penetración de la herida. Presenta bordes nítidos con una pequeña desvitalización de los tejidos, y se presentan bien irrigados. La manera en la que se apartan los bordes será mayor, cuanto más perpendicular sea el corte a las líneas de Langer, a lo extenso de la piel en donde la oscilación sobre los planos profundos es mínima. Este tipo de herida se puede ser causada por el uso de un bisturí. La gravedad de esta herida va a depender de la extensión así como también de las estructuras subyacentes que vayan a afectar. (Salem, et al., 2000, pp. 90-99)

#### ***1.4.1.4 Heridas contusas.***

Tienen como particularidad que sus bordes y su fondo son muy irregulares. La piel puede estar deteriorada, separada y presentar pérdida de color, por ello hay pérdida de nutrientes, esta característica se la considera importante en la toma de decisión de conservación o sección quirúrgica, al existir pérdida de sustancias en una herida estas se vuelven impracticables si se requiere una sutura. (Salem, et al., 2000, pp. 90-99)

#### ***1.4.1.5 Heridas venenosas***

Por lo general este tipo de heridas son puntiformes, y como propiedad relevante presentan inoculación de componentes venenosas; por ello provocan reacciones inflamatorias locales que de acuerdo a su gravedad pueden ser de menores o mayores. Suelen presentar edemas, eritemas, flictenas hemorrágicas, si la cantidad del veneno inoculado es considerable. (Salem, et al., 2000, pp. 90-99)

### **1.3 Estudio clínico**

En una herida durante la realización de un examen clínico nos va a mostrar los siguientes elementos que son muy importantes durante el estudio.

- Dolor: Producido a causas del traumatismo y a la exposición de las terminaciones sensitivas del ambiente

Este dolor va a presentar variaciones en cuanto a su intensidad y permanencia del dolor: por la región afectada, su naturaleza, y por último por su velocidad como en el caso de heridas producidas por armas, estado inmunológico. Pueden existir variaciones en el estado psíquico y malestar por la presencia de este dolor.

- **Solución de continuidad:** Se puede presentar como lineal, curvilínea, estrellada, superficial o profunda, y por último ancha o estrecha. Al existir un alejamiento entre los tejidos puede importar directamente a la piel o solamente a la epidermis, o ser más profunda provocando un daño en músculos, tendones y vasos de más alto calibre.
- **Pérdida de sangre:** la gravedad de la hemorragia está en función de la lesión vascular que se origina, y el tipo de herida ya que en heridas incisas poseen un sangrado mayor, ya que los vasos sanguíneos son seccionados y se encuentra abierta su luz, en las contusas el sangrado es menor y es donde se origina la compresión y contusión de la herida.
- **Sus bordes se apartan:** Se toma principalmente la elasticidad de los tejidos que ha sufrido lesiones por la solución de continuidad, en el apartado de los bordes de una herida la elasticidad desempeña un papel muy importante. Para que esta apartamiento de los bordes alcance su mayor amplitud, es indispensable que la sección de las fibras elásticas se integre de manera transversal. (Salem, et al., 2000, pp. 90-99)

#### **1.4 Cicatrización**

La cicatrización es un proceso que sirve para que se produzca la regeneración de tejidos de la piel cuando esta ha sufrido algún tipo de lesión. Cuando un individuo sufre una herida, durante la recuperación existen una gran variedad de fenómenos tanto químicos como físicos que van a indicar si la cicatrización fue efectiva.

Al presentarse una cicatrización lenta o muy fuerte este proceso se puede considerar como anormal o patológico. (Redrobàn, 2012, pp. 30-32)

La cicatrización de una herida está mediada por una serie de mecanismos cuyo objetivo es que se produzca una masa de tejido fibroso, este tejido es muy similar a la piel cuando esta no a sufrido ninguna alteración. Para que se dé la formación de la cicatriz ocurren una serie de mecanismos conocidos como fases de reparación cutánea. Estas fases son: inflamación, proliferación, remodelación. (Benavides, 2008, pp. 29-35)

### **1.4.1 Etapas de Cicatrización**

#### *1.4.1.1 La fase inflamatoria*

Esta fase comienza seguidamente cuando se produce la herida, y puede estar formada por dos partes, una parte vascular en la cual actúan los diferentes factores que intervienen en la coagulación para evitar que por presencia de hemorragia se dé una gran pérdida de sangre, y por otro lado la llamada celular que ayuda a que los glóbulos blancos se encuentren en la zona donde se encuentra la herida y de esta manera evitar una infección. La duración de esta fase va a depender de la gravedad de la herida pero puede durar un lapso de 24 a 48 horas. (Hidalgo, 2010, pp. 17-25)

#### *1.4.1.2 La fase proliferativa*

Inicia posteriormente después de unos días. Se la conoce a esta fase con este nombre ya que produce una rápida producción. En esta fase se presentan varios procesos, dentro de los más importantes están la proliferación de fibroblastos, reepitelización que ocurre para reponer el tejido epitelial que se perdió durante la lesión producida, para esto existe una migración de queratinocitos desde la matriz basal. El proceso siguiente es la angiogénesis el cual ocurre el segundo día luego de realizarse la lesión, este proceso es absoluto en el proceso de cicatrización ya que una vez que se encuentra activado favorece la migración de células, reparación del tejido endotelial y la formación de nuevos vasos sanguíneos. (Hidalgo, 2010, pp. 17-25)

#### *1.4.1.3 La fase de maduración*

En esta fase ocupa un periodo que puede durar de semanas o incluso algunos años. Aquí se forma aún más colágeno para poder fortificar las lesiones. Seguido de esto se ocasiona una regeneración de la cicatriz, excluyendo la abundancia de colágeno que se encuentra en la cicatriz. La remodelación es lo que va a hacer que una cicatriz muy gruesa, de coloración roja y protuberante pase a una fina plana y blanca, puede permanecer durante meses o años. (Calderon, 2013, p. 56)

*“El proceso de cicatrización consiste en modificaciones locales de vasos sanguíneos y tejidos, limpieza de restos necróticos, infiltración celular proliferación vascular con su consiguiente involución depósito y maduración de sustancias extracelulares, que constituyen la cicatriz”* (Jurlow, 1996).

## ***1.4.2 Tipo de cicatrización***

En el tipo de cicatrización está involucrada la velocidad y el patrón de cicatrización, y va a depender de la cicatrización, del tipo de tejido que contiene la lesión y las condiciones de cierre. En general los tipos de cicatrización de acuerdo a la presencia de tejidos blandos sanos y bien profundos van a ser diferente en cada caso. (Salem, et al., 2000, pp. 90-99)

### ***1.4.2.1 Cicatrización por primera intención***

Uno de los ejemplos más conocidos así como también simples es la reparación de una herida como en el caso de una curación de la incisión quirúrgica, la misma que se encuentra en condiciones de asepsia y cerrada por una sutura quirúrgica, esta lleva el nombre de unión primaria o basal epitelial y muerte de un número relativamente pequeño tanto de células epiteliales como de tejido conjuntivo. Como resultado, la regeneración epitelial es predominante sobre la fibrosis. Se forma una cicatriz pequeña, pero existe una inapreciable contracción de la herida. (Velandia, 2009, p. 36)

Esta es una manera de cicatrización que se la puede ver en heridas que han sido operatorias y a su vez también por heridas incisas.

En este procedimiento son necesarias las siguientes circunstancias:

- Que no exista presencia de infección en la lesión.
- Hemostasia perfecta.
- Muy buena resistencia de los bordes.
- Ajuste por los planos anatómicos de la lesión mientras se realiza la sutura. (Salem, et al., 2000, pp. 90-99)

### ***1.4.2.2 Cicatrización por segunda intención***

Se muestra al haber una pérdida celular o tisular y esta es más extensa, esto se puede dar en grandes heridas, formación de abscesos y úlceras, donde es más complejo el proceso de reparación. En este tipo de cicatrización, conocido como secundario o de segunda intención, es más penetrante la reacción inflamatoria, el tejido de granulación se encuentra en su desarrollo es abundante y la herida se contrae por acción de miofibroblastos. Seguido de estos procesos se produce un depósito de manera excesiva de la matriz extracelular y la formación de la cicatriz. (Velandia, 2009, p. 36)



Entre las diferencias que se encuentran entre una cicatrización de secundaria de la primaria tenemos algunos aspectos:

- Se da la formación de un coágulo de gran tamaño o costra
- Presencia de una intensa inflamación.
- Se da la formación de cantidades mucho mayores de tejido de granulación
- La curación de la herida involucra la contracción de la misma.

#### *1.4.2.3 Cicatrización por tercera intención*

Este tipo de cicatrización se la conoce así cuando juntamos ambos bordes en donde se halla la herida, en la fase de granulación, con la realización de una sutura secundaria. (Salem, et al., 2000, pp. 90-99)

#### **1.4.3 Factores que retrasan la cicatrización**

##### **Factores de acción local:**

- Presencia de agentes infecciosos.
- Cuerpos raros.
- Contusiones.
- Movilización.
- Tensión de la herida por la práctica de una sutura,
- Tumefacción,
- Irrigación de pequeños vasos sanguíneos y también linfáticos,
- Las curaciones muy seguidas a cortas interrupciones puede resultar dañino para poder llegar a una cicatrización, por la remoción de sustancias celulares que pueden ser eliminados mediante la utilización de una gasa.

##### **Factores de Acción General:**

- Trastorno en el cual existe un déficit en la concentración de proteína.,
- Carencia de ácido ascórbico.
- Reacciones alérgicas,
- Presencia de infecciones provocadas por la invasión y multiplicación de microorganismos

- Patologías como la diabetes en donde el cuerpo no puede regular la cantidad de azúcar en la sangre.
- ACTH-Cortisona. (Salem, et al., 2000, pp. 90-99)

### **1.5 Fármacos cicatrizantes**

A lo largo del tiempo se han desarrollado varios fármacos utilizados con el fin de cicatrizar heridas, desde plantas como el matico, o la sábila, hasta medicamentos actuales como el  $\beta$ sitosterol, corticoides, combinaciones con antiinflamatorios y antimicrobianos. El desarrollo de todo lo mencionado se debió a que en gran parte una herida podía constituirse mortal sin un tratamiento adecuado, no de forma directa, sino indirectamente debido al riesgo de infección que podría existir. (Bombardelli, E, et al. 2002 p. 2).

Los fármacos con actividad cicatrizante que existen en la actualidad realizan su efecto estimulando el proceso regenerativo del área afectada, o mantienen las condiciones adecuadas para que se produzca una cicatrización natural, este es el caso de los medicamentos de acción tópica, que contienen en su mayoría colágeno con combinaciones antibióticas, para reducir el peligro de infecciones. (Bombardelli, E, et al. 2002 p. 2).

### **1.6 Fitomedicamentos**

Los fitomedicamentos, se conoce como productos medicinales que están formados por alguna parte de la materia vegetal sea esta partes aéreas o subterráneas, en combinaciones, en su estado original o en preparaciones de vegetales. Representan una alternativa más accesible económicamente para las personas. (Bendazzoli, 2000, p. 123)

#### **Función**

Su función dependerá del tipo de fitomedicamento, han sido desarrollados como tratamiento suplementario y principal para las personas que no quieren ser víctimas de los efectos secundarios que ocasionan otros productos, ya que por ser los fitomedicamentos una opción natural sus efectos son reducidos. Se utilizan en todo tipo desde padecimientos simples como un dolor de cabeza hasta personas que padecen cáncer.

Los fitomedicamentos en cuanto a su incremento en el mercado es fuerte, y es una gran oportunidad que permite la creación de nueva tecnología industrial de esta categoría de medicamentos. (Valverde & Gemal, 2009, p. 291)

Las plantas medicinales constituyen una alternativa sostenible de mercado. El uso de estas especies en fitomedicamentos trae beneficios ya que manifiestan un extenso rango terapéutico y poseen una toxicidad baja, así son más seguros para los consumidores, pues con ello no van a provocar daños colaterales. (Lizcano, et al., 2015, p. 126)

### **1.7 Fitoterapia**

La fitoterapia se conoce como una terapia con plantas, es decir el uso de especies vegetales con un fin terapéutico, ya sea para prevenir, atenuar o curar una patología. (Cañigüeral, 2002, p. 105)

La Fitoterapia es una parte de la terapéutica, y para su desarrollo necesita disponer medicamentos a base de plantas medicinales, garantizando los parámetros de calidad, seguridad y eficacia, tomando en cuenta las características de cada una de las especies tanto de las drogas vegetales como de sus extractos. La calidad se controla desde el inicio garantizando así que el producto cumpla con características de calidad. (Vila & Cañigüeral, 2005, pp. 43-51)

Su filosofía se centra en que es más efectivo usar toda la planta que solo el uso de una parte de la misma, ya sea que se la vaya a utilizar para la prevención o curación de enfermedades. (fitoterapia, 2015, p. 10)

### **1.8 Fitofármacos**

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define a los fitofármacos como: productos obtenidos por procesos tecnológicamente adecuados, empleando exclusivamente materias primas vegetales, con finalidad profiláctica, curativa, paliativa o para fines de diagnóstico. Se caracteriza por el conocimiento de su eficacia y de los riesgos de su uso, así como para la reproducibilidad y la constancia de su calidad. (Cea, 2013, p. 13)

Los fitofármacos son medicamentos que son elaborados con materia vegetal o sus derivados, el ingrediente principal es cualquiera de las partes de la planta ya sea esta aérea o subterráneas, así como extractos, tinturas, jugos. A los que se les ha sometido a un procedimiento para que tomen una forma farmacéutica que podría ser tabletas, cápsulas, jarabes, a los que se han realizado estudios para poder determinar su eficacia y seguridad. (Romero, et al., 2004, p. 127)

En la producción de fitofármacos se extraen metabolitos secundarios que se encuentran en plantas vegetales para poder convertirse en un medicamento. (Gerai, 2001, p. 151)

Con ello, en términos generales los fitofármacos son medicamentos que poseen principios activos provenientes únicamente de plantas, partes de las mismas, ingredientes vegetales o preparaciones que han sido obtenidas partiendo de ellas.

Los fitofármacos, en sentido estricto, son fármacos:

- Que poseen como principio activo partiendo de formulaciones vegetales, sobre todo extractos estandarizados, muy diferentes de aquellos “fármacos químicos”.
- Se obtienen a partir de formulaciones galénicas normales ya sea en cualquiera de las formas farmacéuticas conocidas como gotas, comprimidos, grageas, cápsulas o cremas.
- Que se utilizan en el área de la medicina científica.
- La actividad farmacológica se comprueba mediante experimentos y su eficacia se puede conocer mediante estudios clínicos y en la práctica médica. (Avello & Cisternas, 2010, pp. 1288-1293)

### **Propiedades curativas**

Los fitoterápicos son utilizados para prevenir, atenuar o curar estados patológicos. Así una infusión, hasta la utilización de extractos o principios activos aislados de alguna parte de la planta medicinal se conocen como fitoterápicos, los mismos por la presencia de principios activos brindan beneficios a quienes la consumen. (Baquero, et al., 2009, p. 26)

#### ***1.8.1 Tratamiento Tópico***

En la aplicación por vía tópica se la hace a través de la piel o sus mucosas. Al hablar de mucosas nos referimos a la mucosa conjuntival, oral, urogenital. El efecto de esta vía es a nivel local. (Ocaña, et al., 2010, pp. <http://es.slideshare.net/CristhianOrtiz/forma-farmaceutica-topica>)

Lo que se quiere es aplicar en la zona que se encuentra afectada debido a la acción local que presenta. El propósito es acceder a la dermis, y la forma de penetrar la dermis se va a ver afectada por el estado en que se encuentre la piel. Con ello podemos decir que la absorción es menor en la vejez y mayor en la infancia. (Nogales, 2013, pp. <http://farmaciamarcos.es/vias-de-administracion-de-medicamentos/>)

### **1.8.2 Penetración por vía tópica**

En la superficie cutánea la penetración cumple la ley de Fick el cual nos indica que el flujo es inversamente proporcional al espesor. Debemos conocer las capas que conforman la piel en donde una de ellas es el estrato córneo este es muy delgado. En zonas como la cara y el cuero cabelludo poseen una elevada permeabilidad, lo cual se debe a la estructura de la capa córnea que contiene y a la elevada presencia de folículos que actúan como shunts de baja resistencia. Se conoce que las personas que presentan piel blanca, color de ojos azules tienen una capa cornea más delgada, a diferencia de las personas con piel oscura en las cuales el estrato córneo tiene más capas celulares y es más denso con ello le da más resistencia al intercambio químico.

La penetración de un principio activo hasta la circulación sistémica o los tejidos circundantes implica múltiples procesos: disolución y liberación dentro y desde la formulación, distribución dentro del estrato córneo, propagación a través del estrato córneo, partición comenzando por el estrato córneo hacia la fase acuosa de la epidermis, propagación a través de la dermis y entrada a la circulación sistémica y/o tejidos próximos.

Se puede decir que para llegar al éxito deseado en un sistema terapéutico transdérmico va a depender de la capacidad de difundirse por la piel en la cantidad adecuada para que se obtenga un efecto farmacológico deseado. Estos sistemas alcanzan niveles constantes y bajos de principio activo en plasma para conseguir una efectividad terapéutica. (Allevato, 2007, pp. 155-156)

## **1.9 Lengua de vaca (*Rumex crispus*)**

Especie que procede de la familia de las poligonáceas.

### **1.9.1 Nombre común**

Es conocida como Lengua de buey, acedera, llampaza, llapazo, yerba mulata. (Polunin, 1998, p. [http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex\\_crispus](http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex_crispus))

### **1.9.2 Descripción botánica**

Planta rígida, muy ramificada, perpetua, de aproximadamente 1,5 m. Hojas apretadas y puntiagudas, normalmente de borde ondulado. Las basales con pecíolos extensos, puntiagudas a oblongo-lanceoladas, de longitud de 10 a 30 cm, que presenta un borde continuamente

ondulado, que contiene venas que se pueden observar fácilmente, las hojas de la parte superior son más reducidas. La inflorescencia que posee flores verticiladas y dispuestas enpanículas aglomeradas, apretadas, prolongadas, ascendentes, de una longitud de 10 a 50 cm, pedicelos florecientes de 5 a 10 mm de largo, articulados junto de la base. Fragmentos periánticos que contienen un fruto de forma acorazonada, íntegro, con la presencia de protuberancia que por lo general son de tres. Crece en verano. (Pye, 2008, pp. 9-12)

### **1.9.3 Hábitat**

Terrenos con mucha humedad, campillos, orillas marinas, ríos, terrenos baldíos (Polunin, 1998, p. [http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex\\_crispus](http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex_crispus))

### **1.9.4 Distribución**

Procedente de toda Europa, una parte de Asia y África. Establecida en el mundo entero.

### **1.9.5 Clasificación científica**

*Rumex crispus*

**Tabla 1-1 Clasificación científica de la especie *Rumex crispus***

<b>Reino:</b>	<i>Plantae</i>
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden:</b>	<i>Caryophyllales</i>
<b>Familia:</b>	<i>Polygonaceae</i>
<b>Tribu:</b>	<i>Rumiceae</i>
<b>Género:</b>	<i>Rumex</i>
<b>Especie:</b>	<i>Rumex crispus</i>

Fuente: Polunin 1998

### **1.9.6 Propiedades**

Los principios activos que son los que les van a proporcionar la actividad farmacológica se utiliza la parte fresca de la raíz pero también se pueden usar las hojas. (Polunin, 1998, p. [http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex\\_crispus](http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex_crispus))

### **1.9.7 Composición química**

Posee varios principios activos que son los que le dan la actividad farmacológica y de entre ellos están:

- oxalatos y ácido oxálico (hasta el 25 %)
- antraquinona
- Trazas de aceites esenciales
- taninos (7-15 %)
- sales de Fe (1.5 %)
- flavonoides, tales como el catecol, quercitina, vitexina.
- Ácido ascórbico.

Con ello podemos decir que la presencia de estos elementos brinda a la planta la actividad medicinal y que van a ayudar en el proceso de cicatrización. (Polunin, 1998, p. [http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex\\_crispus](http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex_crispus))

### **1.9.8 Usos medicinales**

Se usa para tratar el estreñimiento crónico, anemia, personas que presentan baja en sus defensas es decir en su sistema inmunológico y también se lo usa para el tratamiento de la diarrea. (Polunin, 1998, p. [http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex\\_crispus](http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex_crispus))

Se la utiliza también como coadyuvante en la terapia antibacterial, en la presencia de ictericia y a su vez es un tónico estomacal, además se lo utiliza como cicatrizante. (Temas de farmacognosia-Plantas medicinales, 2006, pp. <http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/productos-naturales/acedera/>)

### **1.9.9 Acciones farmacológicas**

Es utilizado en el tratamiento de la anemia, posee propiedades cicatrizantes, es un buen vitamínico, expectorante, ayuda a estimular las defensas orgánicas, y también posee acción diurética. Al poseer derivados antraquinónicos debería poseer acción laxante suave, lo contrario que ocurre con el contenido de taninos los cuales se usan por su poder astringente, así como también es usado como hemostático local. (Polunin, 1998, p. [http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex\\_crispus](http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex_crispus))

Extractos etanólico y acuoso, de la parte subterránea de la planta es decir su raíz, manifestaron actividad antitumoral al ser evaluados en ratones tanto hembras como machos, por la vía subcutánea frente a tumores del tipo Sarcoma 37.

Un extracto preparado con las raíces también evidenció una actividad estimulante de la motilidad intestinal cuando fue administrado a ratas por la vía intragástrica, a la dosis de 2ml/kg.

En un ensayo con extractos de raíces administrados a ratas por la vía intragástrica, a la dosis de 2ml/kg, se observó una actividad estimuladora de la liberación de histaminas. (Jaramillo, 2003, p. 81)

#### *1.9.9.1 Efectos Secundarios*

En cantidades altas se puede presentar vómitos, diarreas y modificaciones en la micción. (Temas de farmacognosia-Plantas medicinales, 2006, pp. <http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/productos-naturales/acedera/>)

#### *1.9.9.2 Precauciones/ Intoxicaciones*

La intoxicación se muestra como un cuadro gastroentérico: náuseas, vómitos, dolores cólicos, diarrea.

En procesos graves se puede presentar hipocaliemia, acidosis metabólica e insuficiencia hepática o renal hasta puede causar la muerte. (Nogué, et al., 2009, pp. 34-35)

#### *1.9.9.3 Alergias*

La ingesta de esta planta no está indicada en individuos que posean alergia o hipersensibilidad conocidas a la lengua de vaca o a los componentes que contiene. Los individuos con alergia al polen de la ambrosía también pueden presentar alergia al polen de la lengua de vaca. (Reig R, 1990, pp. <https://sites.google.com/a/georgetown.edu/urban-herbs/curled-dock>)

#### *1.9.9.4 Componentes químicos y toxicidad*

Puede presentar toxicidad tanto en el ganado y en aves por los componentes que posee.

(Mondragón, 2009, pp. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/polygonaceae/rumex-crispus/fichas/ficha.htm>)

Muelle de hojas rizadas tienen un sabor agridulce ya que esta planta conserva un alto contenido de ácido oxálico puede ser de sabor agradable al paladar, pero esta debe ser consumida con mucha medida ya que en excesos puede ocasionar inconvenientes, esto debido a que puede



producir problemas de irritación en el tracto urinario y elevar el peligro de la formación de cálculos renales.

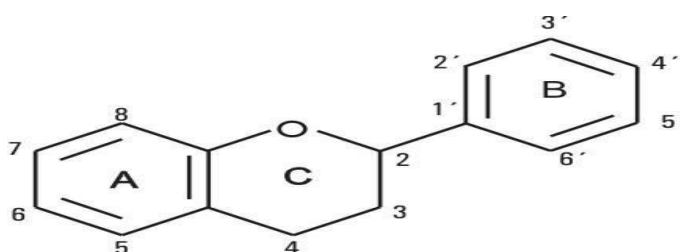
Se ha obtenido datos de envenenamiento de animales que consumieron las partes aéreas de esta planta esto puede deberse a la existencia de oxalatos. (Cervantes & Torres, 2007, p. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7408>)

Si existe sobredosis del extracto de la raíz esta provoca síntomas como diarrea, náuseas y poliurea. Se ha podido evidenciar la muerte de animales por alimentarse de esta planta debido al envenenamiento por nitrato u oxalato. (Piola., 2010, p. <http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=880>)

Las partes de la planta como son el tallo y las hojas, así también como el agua de cocción de la lengua de vaca, poseen una elevada concentración de ácido oxálico el cual posee una elevada capacidad para adherirse al calcio, hierro, potasio y manganeso. Este al combinarse con el calcio sérico da como resultado el oxalato cálcico que son los que ocasionan la obstrucción de los túbulos renales. Comúnmente es habitual que estas sales insolubles de oxalato se concentren en los hepatocitos y en ocasiones las afectaciones provoquen daños en el hígado que no son reversibles. Se han provocado intoxicaciones graves por confundir esta planta con una especie que es comestible de la acedera (*Rumex crispus*) que se la suele utilizar como verdura. (Acedera, s.f., p. <http://www.murciasalud.es/toxiconet.php?iddoc=184381&idsec=4014#toxicidad>)

## 1.10 Metabolitos secundarios que contribuyen a la cicatrización

### 1.10.1 Flavonoides



**Figura 1 -1 Estructura básica de los flavonoides**

Fuente: Olga Lock Ugaz, 1994

Se los conoce también como antotaxinas es uno de los metabolitos que se lo pueden encontrar extensamente distribuidos en componentes de origen naturales, en todos los tipos de flavonoides conocidos poseen 15 átomos de carbono en el núcleo básico. Se hallan presentes en

muchas plantas, pero las más comunes que se encuentran son las flavonas y también los flavonoles y en menor ocurrencia las isoflavonas, chalconas y auronas.

Una de las características de estos componentes químicos es su solubilidad en agua y etanol, posee a su vez una intensa absorción en la zona ultravioleta y visible del espectro ya que existe la presencia de sistemas aromáticos y conjugados en la estructura de estos compuestos.

Presenta acciones farmacológicas muy amplias, así tenemos que son utilizados para la fragilidad capilar, actividades dilatadoras coronarias, antihepatotóxica, estrógena, colerética, actividad diurética y también antimicrobiana y una acción fungitóxica que se debe a las isoflavonas. (Lock de Ugaz, 1994, p. 123)

#### *1.10.1.1 Clasificación de los flavonoides*

##### *1.10.1.1.1 Flavonas*

Este tipo de flavonoides son compuestos que se derivan del benzo- $\gamma$ -pirona. Una de las plantas que posee en su contenido flavonas son las especies como la Tila cordata, Pasiflora incarnata que contiene además como principios activos la hesperidina.

Las hojas del Ginkgo (Ginkgo biloba) también poseen flavonas brindando así efectos antioxidantes, tónico venoso, vasoprotector, antiagregante plaquetario y ayuda a mejorar la circulación cerebral. (López, 2002, p. 108)

##### *1.10.1.1.2 Flavonoles*

Dentro de los flavonoles que más se destacan encontramos al rutósido o rutina y a la silimarina. El primero es decir el rutósido es un ramnoglucósido de la quercetina y posee efectos antiespasmódicos antihemorrágicos, también antirreumática. (López, 2002, p. 110)

##### *1.10.1.1.3 Flavanonas*

Dentro de los compuestos más importantes de este grupo de flavonoides tenemos al liquiritósido e isoliquiritósido, que se los halla tanto en las raíces como en los rizomas del regaliz glabra, también tenemos a los citroflavonoides estos son subproductos en empresas que fabrican zumos de frutas, y son utilizados por poseer efectos vasodilatadores. Dentro de los citroflavonoides más representativos tenemos al hesperósido, el neohesperidósido y por último el naringósido.

Los flavonoides en conjunto con la glicirricina de la raíz del regaliz, brindan un efecto antiespasmódico, antiulceroso, antiinflamatorio y antiagregante plaquetario a su vez también posee propiedades expectorantes y antitusivas estas debidas en gran parte a la glicirricina.

Al aplicar por vía tópica suele estar recomendado como un buen antiinflamatorio local en la presencia de hemorroides y a también en inflamaciones de origen cutáneo. (Lòpez, 2002, p. 112)

### ***1.10.2 Aplicaciones de los flavonoides***

- Ayuda en el mejoramiento de la acción del ácido ascórbico. Se usan en hemorragias, úlceras y además por su efecto antiviral.
- Ya que los flavonoides una de las propiedades que poseen son antioxidantes ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares.
- Otro de los beneficios de los flavonoides es que nos ayuda en la prevención del cáncer investigaciones nos demuestran que muchos de estos flavonoides no van a permitir la proliferación de células cancerosas. (Kukliski, 2003, pp. 19-20)

### ***1.10.3 Taninos***

Estos compuestos poseen estructura polifenólica, y pueden precipitar por ejemplo proteínas, alcaloides. Se les conoce por sus propiedades astringentes que se debe a la estructura química que presentan. Se las puede encontrar en la familia de las fagáceas, rosáceas, mirtáceas o en raíces, cortezas, frutos.

Existen dos tipos de taninos los cuales son los hidrolizables y los condensados

Dentro de los taninos hidrolizables encontramos al pentagalolil glucosa al cual se le atribuye actividades farmacológicas como anticancerígena, antidiabética y antioxidante, también se ha encontrado que este tipo de taninos poseen actividad antitumoral contra los sarcomas.

Otro de los tipos de taninos son los condensados estos tiene actividad antioxidante, brinda beneficios a la salud por poseer efectos antibacteriales o bacteriostáticos, anticancerígenos y tienen una relación con la presencia de trombos en el sistema circulatorio por el efecto de agregación plaquetaria que presentan.

Algunos de estos beneficios pueden ser la inhibición de la oxidación lipídica, así como su efecto anti carcinogénico, que va muy ligado a prevenir daños al ADN provocados por la presencia de radicales libres, y en consecuencia el desarrollo de células cancerígenas. (Vàzquez & Alvarez, 2012, p.

### *1.10.3.1 Aplicaciones de los taninos*

Dentro de las aplicaciones más importantes que se les da a los taninos son:

- Propiedades astringentes y con ello antidiarreicas y vasoconstrictoras debido a que precipitan las proteínas que se las encuentran en las secreciones.
- Poseen propiedades antimicrobianas y antifúngicas.
- Tienen la capacidad de inhibir a las enzimas.
- Se los utiliza como antídotos en ingestión por alcaloides y metales pesados.
- Antioxidantes con esto imposibilita la autooxidación del ácido ascórbico. (Kukliski, 2003, p. <https://books.google.es/books/about/Farmacognosia.html?hl=es&id=FLLcQAACAAJ>)

## **1.11 Animales de laboratorio**

Para la realización de experimentos los animales que son más usados son los roedores. Esto se debe a su fácil manejo, cría, limpieza, y a su vez presentan una capacidad para adaptarse muy fácil a situaciones nuevas. Los animales usados son ratones albinos. Los mismos que se encontraron en condiciones aptas de temperatura, iluminación y con buena alimentación y agua. (Gonzalez & Jimenez, 2008, p. <http://www.ops.org.bo/textocompleto/rnbiofa93020203.pdf>)

### *1.11.1 Ratones de laboratorio*

El ratón es un animal de la familia de los mamíferos, tiene sangre caliente, y hábitos nocturnos. El sentido de la audición se encuentra en gran medida desarrollado, por ello se perturban con fuertes sonidos, de igual manera poseen un olfato muy desarrollado el mismo que es útil para detectar comida y a su vez establecer un orden social. Su visión es muy pobre y no distinguen colores. Por el tamaño que poseen son susceptibles a variaciones ambientales, debido a que una pequeña variación puede afectar a su fisiología.

El tamaño de un ratón suele variar entre 12 a 15 cm de longitud, un peso cercano de 30 gramos en su fase adulta. Tienen una vida media de 10 a 12 meses. Tienen un ciclo circadiano, con su pico máximo de actividad durante las horas de oscuridad, dependiendo de la cepa del animal va a variar la cantidad de alimento y agua. Generalmente las jaulas en donde viven los ratones las

suelen dividen por áreas para comer, dormir, orinar, etc. (Instituto Nacional De Salud, 2008., pp. 15-16)

Dentro de las ventajas que encontramos para escoger a los ratones como un modelo animal de experimentación es la fácil manipulación que nos brindan, poseen una tasa de reproducción alta, se pueden tener cepas definidas, esto debido a la variabilidad genética que presentan. Anatómicamente presentan vesícula biliar, un canal inguinal abierto, y una cola con escamas, la misma que cumple con la función de termorregulación. (Instituto Nacional De Salud, 2008., pp. 17-18)

**Tabla 2-1.** Taxonomía del ratón de laboratorio

<b>Reino</b>	<b>Animalia</b>
<b>Filo</b>	Chordata
<b>Clase</b>	Mammalia
<b>Orden</b>	Rodentia
<b>Familia</b>	Muridae
<b>Subfamilia</b>	Murinae
<b>Subgénero</b>	Mus
<b>Genero</b>	Mus
<b>Especie</b>	<i>M. musculus</i>

**Fuente:** Instituto Nacional de Salud, 2008.

## CAPÍTULO II

### PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1 Lugar de investigación

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales y Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, que se encuentra en la ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo.

#### 2.2 Materiales, equipos y reactivos

##### 2.2.1 *Materia prima*

Las materias primas utilizadas para la realización de esta investigación fueron las hojas de *Rumex crispus* también conocida como Lengua de vaca, la misma que fue recolectada en la provincia de Chimborazo, parroquia Pungalà, comunidad Inguñay, longitud Oeste 7768730, Latitud Sur 9799344 y una altitud de 3103 MSNM.

##### 2.2.2 *Reactivo biológico*

Para la realización del ensayo *in vivo* se utilizaron ratones de laboratorio que pertenecen a la especie *Mus musculus* de cepa BALB/c, los mismos que fueron obtenidos en el Bioterio de la Facultad de ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, estos animales se los mantuvo a una temperatura controlada de  $22\pm 1$  °C, humedad del 50%, cumpliendo un ciclo circadiano es decir 12 horas con luz, y 12 horas de oscuridad, con alimentación y agua *ad libitum*. Se utilizaron ratones de 2 a 4 meses de vida, y tuvieron un lapso de adaptación a las condiciones necesarias de la investigación por 15 días.

##### 2.2.3 *Descripción*

- Peso promedio de los ratones:  $35,5\pm 6$  gramos.
- Sexo de los animales: hembras y machos

- Procedencia: Bioterio de la Facultad de Ciencias, perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo.
- Con un ciclo circadiano de 12 horas luz y 12 horas oscuridad.
- Alimento 4 gramos de balanceado por cada ratón
- Agua *ad libitum*
- Cambio de camas pasando un día

#### 2.2.4 Materiales y equipos

**Tabla 1-2.** Lista de materiales y equipos utilizados en la investigación

MATERIALES	EQUIPOS
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Espátulas</li> <li>• Fundas rojas y negras</li> <li>• Frascos color ámbar</li> <li>• Guantes de nitrilo</li> <li>• Bisturís</li> <li>• Jeringuillas de 1mL</li> <li>• Pinzas</li> <li>• Varillas de agitación</li> <li>• Papel filtro</li> <li>• Pipetas volumétricas</li> <li>• Tubos de ensayo</li> <li>• Gradilla</li> <li>• Embudo Buchner</li> <li>• Vasos de precipitación</li> <li>• Balones aforados de 10, 50 y 25 mL</li> <li>• Balón esmerilado de 250ml</li> <li>• Cuba cromatográfica</li> <li>• Jaulas para animales</li> <li>• Rejillas</li> <li>• Franelas</li> <li>• Cápsulas de porcelana</li> <li>• Gasas</li> <li>• Picnómetro</li> <li>• Placas petrifilm 3M</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaporador rotatorio</li> <li>• Reverbero</li> <li>• Estufa Memmet</li> <li>• Mufla</li> <li>• Balanza analítica</li> <li>• pH-metro</li> <li>• Desecador</li> <li>• Espectrofotómetro</li> <li>UV HDM</li> <li>• Bomba</li> </ul>

Realizado por: Andrea Barreno, 2015.

**Tabla 2- 2.** Lista de reactivos utilizados en la investigación de la comprobación de la actividad cicatrizante del extracto de hojas de *Rumex crispus*

<b>REACTIVOS GENERALES</b>	<b>REACTIVOS PARA TAMIZAJE FITOQUIMICO</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agua destilada</li> <li>• Metanol</li> <li>• Etanol</li> <li>• N- Metilisobutilcetona</li> <li>• Acetato de etilo</li> <li>• Ácido fórmico</li> <li>• Ácido acético glacial</li> <li>• N-butanol</li> <li>• Diclorometano</li> <li>• Quercetina</li> <li>• Ácido sulfúrico</li> <li>• Tricloruro de aluminio</li> <li>• Hidróxido de Sodio</li> <li>• N-Butanol</li> <li>• Amoníaco</li> <li>• Cloroformo</li> <li>• Carbonato de sodio</li> <li>• Mezcla de fosfomolibdato y fosfotungstato (Reactivo de Foling-Ciocalteu)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Yoduro de Bismuto y Potasio (Reactivo de Dragendorff)</li> <li>• Solución de yodo - yoduro de potasio (Reactivo de Wagner)</li> <li>• Yoduro de Mercurio y Potasio (Reactivo de Mayer)</li> <li>• Cloruro férrico 5%</li> <li>• Magnesio metálico</li> <li>• Solución de ácido pícrico al 1% mas solución al 10% de hidróxido de sodio.(Reactivo de Baljet)</li> <li>• Sulfato de cobre cristalizado y tartrato mixto de potasio y sodio. (Reactivo de Fehling)</li> <li>• Alcohol amílico</li> <li>• Anhídrido acético</li> <li>• Ácido clorhídrico 1%</li> <li>• Ácido nítrico</li> <li>• Hidróxido de sodio 10%</li> <li>• Solución de ninhidrina 5%</li> </ul>

Realizado por: Andrea Barreno, 2015.

## 2.3 Técnicas y métodos

### 2.3.1 Control de calidad de la droga cruda

#### 2.3.1.1 Contenido de humedad

Este método consiste en poder comprobar la pérdida de agua de la droga cruda mediante una desecación para lo cual se utiliza una estufa. Para poder conocer la humedad de la droga vegetal



se realizó un método gravimétrico. (Rhodes, 2011, pp. <http://www.monografias.com/trabajos75/estabilidad-medicamentos/estabilidad-medicamentos2.shtml>)

Este procedimiento se realizó por triplicado según las Normas Ramales. (Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309,311,312, MINSAP 1992, 1992)

#### *2.3.1.2 Determinación de cenizas totales*

Este ensayo para poder determinar cenizas totales se lo realizó por un método gravimétrico. Se realizó este procedimiento las veces que sea necesario hasta obtener un valor constante, se realizó este método por triplicado siguiendo las Normas Ramales. (Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309,311,312, MINSAP 1992, 1992)

#### *2.3.1.3 Cenizas solubles en agua*

Este ensayo para poder obtener cenizas solubles en agua se lo realizó por un método gravimétrico. Se realizó este procedimiento las repeticiones necesarias hasta obtener un valor constante siguiendo las Normas Ramales. (Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309,311,312, MINSAP 1992, 1992)

#### *2.3.1.4 Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico*

Se obtuvo el porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico mediante un método gravimétrico. Se realizó este procedimiento las repeticiones necesarias hasta tener un peso constante siguiendo las Normas Ramales. (Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309,311,312, MINSAP 1992, 1992)

### **2.3.2 Control de calidad del extracto**

#### *2.3.2.1 Determinación de los requisitos organolépticos.*

Determinación de olor: Se tomó una tira de papel y se introdujo en un extremo del frasco que contiene el extracto. Se percibió y se pudo determinar el olor que presentó.

Determinación del color: El extracto se colocó en un tubo de ensayo limpio y seco se llenó hasta las tres cuartas partes con el extracto y se observó color y transparencia.

#### *2.3.2.2 Determinación de la densidad relativa.*

Para hallar la densidad se siguió el procedimiento descrito en las Normas Ramales. (Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309,311,312, MINSAP 1992, 1992)

#### *2.3.2.3 Determinación del índice de refracción*

Para poder encontrar en índice de refracción se realizó un método óptico el cual permite determinar la velocidad de propagación de la luz en una sustancia, la cual se relaciona directamente con la densidad de una sustancia.

Para el procedimiento se siguió lo descrito en las Normas Ramales. (Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309,311,312, MINSAP 1992, 1992)

#### *2.3.2.4 Determinación del pH de extractos y tinturas*

Se obtuvo el pH del extracto mediante un método potenciométrico. Para el procedimiento se siguió lo descrito en las Normas Ramales. (Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309,311,312, MINSAP 1992, 1992)

#### *2.3.2.5 Determinación de los sólidos totales.*

Para hallar el porcentaje de sólidos totales se realizó un método gravimétrico, y para el procedimiento se siguió lo descrito en las Normas Ramales. Este ensayo se realizó por triplicado. (Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309,311,312, MINSAP 1992, 1992)

#### *2.3.2.6 Análisis Microbiológico*

##### **Método Petrifilm para Recuento de Microorganismos**

- Colocar 25g de extracto en un matraz erlenmeyer estéril.
- Añadir 250 mL de agua peptonada al 0,1% estéril y mezclar muy bien; así se obtiene una dilución de  $10^{-1}$ .
- Por el lapso de 1 hora se deja reposar.
- Tomar 1 mL de la dilución que se obtuvo antes y homogenizar con 9 mL de agua peptonada 0,1% y una dilución de  $10^{-2}$
- La placa Petrifilm se la pone en una superficie plana.

- Alzar el film superior, con una pipeta esteril tomar 1ml esta debe estar en forma perpendicular a la placa petrifilm y se deja caer la muestra en el centro de la placa.
- Se baja el film superior teniendo mucho cuidado de que no exista formación de burbujas.
- Esperar unos minutos para que se solidifique el gel.
- Para aerobios mesofilos se incubó a  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $72\pm 2$  horas
- Para coliformes totales se incubó por  $24\text{h} \pm 2\text{h}$  a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- A una temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 3-5 días para Mohos y levaduras. (Orozco, 2013, p. 75)

## **2.4 Tamizaje fitoquímico**

El tamizaje se realizó según lo descrito en la farmacognosia de Miranda.

### **2.4.1 Ensayo de Dragendorff**

Se realizó el ensayo de acuerdo al procedimiento descrito en la farmacognosia de Miranda. Mediante este ensayo podemos comprobar la presencia de alcaloides en el extracto, se reporta los resultados de la siguiente manera: (+) opalescencia, (++) turbidez definida, (+++) precipitado. (Miranda, 2006, p. 39)

### **2.4.2 Ensayo de Mayer**

Para realizar este ensayo se siguió el procedimiento descrito en la Farmacognosia de Miranda. Al igual que el método descrito anteriormente permite conocer la presencia de alcaloides, los resultados obtenidos se reportan de la siguiente manera: (+) opalescencia, (++) turbidez definida, (+++). (Miranda, 2006, p. 39)

### **2.4.3 Ensayo de Wagner**

Se procede de la forma descrita en el ensayo de Dragendorff, y se adiciona 2 gotas de reactivo de Wagner. Para reportar los resultados se realiza de igual manera que en los ensayos antes mencionados, este ensayo indica la presencia de alcaloides. (Miranda, 2006, p. 39).

#### **2.4.4 *Ensayo de Lieberman- Buchard***

Este ensayo se realizó de acuerdo a la farmacognosia de Miranda. Este ensayo nos ayuda a conocer la presencia de compuestos terpénicos en el extracto. Los cambios de coloración que se observa se reportan de este modo: (Miranda, 2006, p. 39).

- Rosado- azul muy rápido
- Verde intenso- visible medio rápido
- Verde oscuro- negro, final de la reacción.

#### **2.4.5 *Ensayo de Baljet***

Para realizar el ensayo se siguió el procedimiento descrito en la Farmacognosia de Miranda. Este ensayo nos ayuda a determinar presencia de compuestos cumarínicos. Este ensayo se considera como positivo cuando existe la presencia de un precipitado de coloración roja. (Miranda, 2006, p. 39).

#### **2.4.6 *Ensayo de Sudán III***

Para realizar el ensayo se siguió el proceso descrito en la Farmacognosia de Miranda. Para considerar a este ensayo como positivo aparecen gotitas de grasas o puede haber formación de una película color rojo. (Miranda, 2006, p. 39).

#### **2.4.7 *Ensayo de Borntrager***

Se siguió el procedimiento descrito en la farmacognosia de Miranda. Este ensayo nos va a permitir detectar la existencia de quinonas en el extracto. Si la fase acuosa alcalina o parte superior cambia de coloración a rosa o rojo este ensayo se considera como positivo. (Miranda, 2006, p. 39).

#### **2.4.8 *Ensayo de catequina***

Para el procedimiento se siguió la Farmacognosia de Miranda. Si al observar en la luz UV se observa una mancha color verde brillante se considera al ensayo como positivo. (Miranda, 2006, p. 40).

#### **2.4.9 *Ensayo de saponinas***

Se siguió el procedimiento que se encuentra en la Farmacognosia de Miranda. Mediante este ensayo se va a poder determinar la presencia de saponinas en el extracto. Si existe formación de espuma y esta se mantiene por dos minutos este ensayo se considera positivo. (Miranda, 2006, p. 40)

##### **2.4.1.0 *Ensayo de cloruro férrico***

Este ensayo sirve para comprobar la presencia de compuestos fenólicos. Si existe la presencia de un color rojo este ensayo se considera como positivo debido a que poseen compuestos fenólicos. (Miranda, 2006, p. 40).

- Color rojo-vino, presencia de compuestos fenólicos en general.
- Color verde intensa, presencia de taninos del tipo pirocatecólicos.
- Color azul, indicativo de taninos del tipo pirogalotánicos.

##### **2.4.2.0 *Ensayo de Shinoda***

Para este ensayo se siguió la Farmacognosia de Miranda, nos va a permitir conocer si existe presencia de flavonoides en el extracto. Se considera un ensayo como positivo cuando la fase del alcohol toma un color amarillo, naranja o rojo intenso. (Miranda, 2006, p. 40).

##### **2.4.3.0 *Ensayo de Baljet:***

Se siguió para este ensayo lo descrito en la farmacognosia de Miranda. Este ensayo nos ayuda a conocer en un extracto la presencia de cumarinas. En este ensayo si hay presencia de coloración o precipitado rojo se reporta el ensayo como positivo. (Miranda, 2006, p. 39)

##### **2.4.4.0 *Ensayo del cloruro férrico***

Se realizó este procedimiento siguiendo la Farmacognosia de Miranda. En un extracto acuoso se determina presencia de taninos. Se considera como positivo al ensayo si existe la presencia de coloraciones que se mencionaron en el ensayo de cloruro férrico de un extracto alcohólico. (Miranda, 2006, p. 40)

#### **2.4.5.0      *Ensayo de Shinoda***

Para este ensayo se siguió el procedimiento descrito en la farmacognosia de Miranda. Nos va a ayudar a conocer si existe presencia de flavonoides en un extracto. Para considerar a este ensayo como positivo el alcohol amílico toma un color amarillo, naranja, carmelita o rojo. (Miranda, 2006, p. 40)

#### **2.4.6.0      *Ensayo de Fehling***

Para realizar este procedimiento se siguió la farmacognosia de Miranda. Este ensayo nos ayuda a reconocer en un extracto si existen azúcares reductores. Para considerar como positivo al ensayo la solución toma un color rojo o aparece un precipitado de coloración roja. (Miranda, 2006, p. 40)

#### **2.4.7.0      *Ensayo de mucílagos***

Mediante este ensayo nos va a ayudar a conocer la presencia de estructuras tipo polisacárido en extractos. Para considerar como positivo a este ensayo la alícuota del extracto debe tomar una consistencia gelatinosa. (Miranda, 2006, p. 40)

#### **2.4.8.0      *Ensayo de principios amargos y astringentes***

Para realizar este ensayo se coloca una gota de extracto en la lengua y de esta manera poder conocer que sabor presenta el extracto. (Miranda, 2006, p. 41)

### **2.5      Cromatografía de capa fina (TLC)**

#### **2.5.1.0 Cromatografía del extracto de *Rumex crispus***

Se separó las clorofilas del extracto mediante centrifugación para después proceder a la aplicación en la placa de silica gel. Cuando ya se obtuvo la separación de clorofilas del extracto de hojas de *Rumex crispus* se sometió a cromatografía de capa fina para de esta forma poder identificar los flavonoides presentes en el extracto, siguiendo lo descrito por Wagner se utilizó una fase móvil comprendida de los solventes, acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua: N-metilisobutilcetona en la proporción 6:0,5:0,5:1:4 ya que después de probar

varios sistemas de solventes este que mencionamos muestra una buena resolución, y se observan claramente 5 manchas que fueron observadas en el UV.

## **2.6 Cuantificación de flavonoides totales**

Para la cuantificación de flavonoides totales se utilizó un método colorimétrico, se la utilizó un espectrofotómetro UV.

Para poder cuantificar los flavonoides totales presentes en el extracto etanólico al 70% primero se concentra hasta llegar a sequedad, y se redisuelve con metanol al 98%, seguido se preparó una curva de calibración con quercetina que es el estándar utilizó, a determinadas concentraciones: 20; 40; 60; 80 y 100 mg/L.

- Se colocó 1mL de la muestra o estándar diluido
- Se adicionó 4mL de agua destilada.
- A tiempo cero se agregó 0.3mL de NaNO<sub>2</sub> al 5%.
- Transcurrido 5 minutos se adicionó 0.3mL de AlCl<sub>3</sub> al 10%
- Se esperó 6 minutos y se agregó 2mL de NaOH 1M.
- Se homogenizó, después se dejó en reposo por un lapso de 5 minutos a temperatura ambiente bajo sombra
- Finalmente se leyó la absorbancia de la mezcla que presenta un característico color rosado en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm.

Los flavonoides totales se expresan como miligramos equivalentes de quercetina (QE) por gramos de muestra seca. (Boukhris, et al., 2012, pp. 1-8)

## **2.7 Determinación de fenoles totales.**

Para realizar la cuantificación de fenoles totales se utilizó el método Folin-Ciocalteu

Para poder cuantificar los fenoles totales presentes en el extracto etanólico al 70% se concentra el mismo hasta sequedad, se redisuelve con metanol al 98%, para lo cual se prepara una curva de calibración con el estándar usado que fue ácido gálico a determinadas concentraciones: 5; 10; 20; 40 y 60 mg/L.

- Se colocó 2mL en un tubo de muestra o estándar diluido
- Se agregó 0.5mL de reactivo Folin-Ciocalteu 20%

- Cuando transcurrió 5 minutos se adicionó 0.5mL de la solución de carbonato de sodio saturado (75g/L)
- Inmediatamente se adicionó 5mL de agua destilada
- Se dejó reposar la mezcla por un lapso de una hora la misma que debe estar bajo sombra y a temperatura ambiente
- Para finalizar se realizó las lecturas en el espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 765nm.
- Se Realizó la curva de calibración (concentración vs absorbancia).

Para expresar los resultados se los reportó como miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramos de muestra. (Hua & Teik, 2012, pp. 122-127)

## 2.8 Protocolo farmacológico

Se utilizaron 24 ratones machos y hembras *Mus musculus*, de 2 a 3 meses de vida, divididos en 6 grupos de 4 individuos cada uno. Fueron aclimatados por un lapso de dos semanas.

Para la realización del extracto se partió de 100g de droga seca con 110ml de alcohol al 40% se dejó macerar por 24 horas después se la colocó en el ultrasonido por 20 minutos, se filtró y se midió la cantidad de extracto que se obtuvo en una probeta, para finalizar en balones aforados de 10ml se realizó las diferentes concentraciones a las que fue aplicado el extracto, 25%, 50% y 75%.

Durante la ambientación se tuvo 12 hembras y 12 machos de un peso similar de  $35,5 \pm 6$  gramos de 2 a 3 meses, se los pesó durante los 15 días, alimento 4 gramos de pelet por ratón, *agua ad libitum*, se controló la Temperatura y Humedad Relativa que debe encontrarse en  $22 \pm 1$  y 50%, respectivamente, con un ciclo circadiano de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, cambio de camas pasando un día, de procedencia: Bioterio de la Facultad de Ciencias, perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo. Al finalizar la ambientación se agrupó de acuerdo a pesos similares.

**Tabla 3 -2:** Esquema de tratamientos para la actividad cicatrizante

Blanco	Control (+)	Control (-)	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
<b>Sin tratamiento</b>	Neomicina Sulfato 0.50%+ Prednisolona 0.50%	Alcohol al 40%	Extracto hidroalcoholico de hojas de <i>Rumex crispus</i> al 25%	Extracto hidroalcoholico de hojas de <i>Rumex crispus</i> al 50%	Extracto hidroalcoholico de hojas de <i>Rumex crispus</i> al 75%

Realizado por: Andrea Barreno H, 2015



## **2.9 Actividad cicatrizante en los ratones**

- Se depiló el dorso de cada ratón con la ayuda de crema depilatoria Veet, para eliminar la velloidad de la parte dorsal de los animales.
- Transcurrida 24 horas después de haber realizado la depilación, y al comprobarse que no existió irritación se procedió a anestésiar a los animales por vía tópica con lidocaína, se esperó unos minutos y se procedió a inducir la herida en el animal con la ayuda de un bisturí y una longitud de 2cm.
- Se colocó 0,1 mL con diferentes jeringas para la aplicación del extracto de *Rumex crispus* a las distintas concentraciones que se usó hasta que las heridas hayan cicatrizado.
- Se midió la longitud de la herida diariamente con una regla.

## **2.10 Análisis histopatológico**

1. Después de que ya se observó una buena cicatrización se debe esperar 15 días.
2. Cuando transcurrió los 15 días se realizó el análisis histopatológico.
3. Se realizó la eutanasia de los 24 ratones en una cuba que contenga torundas empapadas de éter.
4. Se sacó a los ratones de la cuba, y con unas tijeras quirúrgicas cortar 2cm<sup>3</sup> de diámetro en donde encuentre el tejido cicatricial.
5. Se colocó los cortes del tejido de la piel de los seis grupos de animales usados en placas separadas y rotuladas.
6. Inmediatamente se colocó en frascos que contengan formol al 10% para su conservación.
7. Los cortes histológicos fueron llevados a SOLCA para su análisis.

## **2.11 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos se tratan con el programa SPSS, para de esta manera tener el área de la herida de cada ratón a lo largo del tiempo, a continuación se halla el área bajo la curva para cada animal. A los datos obtenidos se los realiza un test de varianza ANOVA y un post-test de TUKEY ya que de esta manera podemos comprobar diferencias significativas entre los tratamientos usados. ( $p < 0.05$  se consideró como significativo).

## CAPITULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Control de calidad.

**Tabla N° 1-3.** Control de calidad de las hojas secas de *Rumex crispus*. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba Octubre 2015.

PARÀMETRO	<i>Rumex crispus</i>	LÍMITES ACEPTADOS USP # 28
HUMEDAD (%)	12,0%	7-14%
CENIZAS TOTALES (%)	7.7%	12%
CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	6,4%	7%
CENIZAS INSOLUBLES EN ÀCIDO CLORHÌDRICO	4.7%	5%

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

En la tabla N° 1-3 el valor obtenido de humedad nos indica que está dentro de los límites establecidos por la USP # 28 que en nuestro caso fue del 12%.

El contenido de cenizas totales dio un valor de 7.7%, valor que se encuentra dentro de los límites establecidos por la USP # 28 y nos indica el contenido de sales minerales presentes en la especie, este parámetro es importante ya que la presencia de materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica.

En el caso de las cenizas solubles en agua tenemos un valor de 6,4% y cenizas insolubles en ácido clorhídrico 4,7% ambos valores se encuentran dentro de las especificaciones de la USP #28, en el caso de las cenizas insolubles en ácido nos indica que la especie vegetal en su composición química posee sales minerales. (Orozco, 2013, p. 75)

**Tabla N° 2-3** Características organolépticas del extracto de hojas de *Rumex crispus*. Realizado en el laboratorio de Productos Naturales. ESPOCH. Riobamba Octubre 2015.

PARÁMETRO	<i>Rumex crispus</i>
COLOR	Amarillo
OLOR	Dulce
TURBIDEZ	Ausencia
ASPECTO	Líquido

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

En la tabla N° 2-3 dentro de las características organolépticas se debe indicar que no tiene estándares de referencia con los que se puede comparar nuestro extracto de hojas de *Rumex crispus*, ya que estos extractos tienen sus propias características y valores de acuerdo a la especie a la que pertenecen, así como también a la parte usada de la planta vegetal. Siendo una de las características que más predominó su olor dulce y no penetrante.

**Tabla N° 3-3** Control de calidad del extracto de hojas de *Rumex crispus*. Realizado en el laboratorio de Productos Naturales. ESPOCH. Riobamba Octubre 2015.

PARÁMETROS	<i>Rumex crispus</i>
SÓLIDOS TOTALES USP # 28 (6%)	2.52%
DENSIDAD	0,86 g/cm <sup>3</sup>
pH	5,7
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1.43

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

En la tabla N° 3-3 Se encuentran los resultados de las determinaciones de los parámetros físico-químicos del extracto de hojas de *Rumex crispus*, estos parámetros se realizaron según NRSP 312 de Cuba y Guía Metodológica de Investigación en plantas medicinales del Ministerio de Salud Pública de Cuba (MINSAP).

De acuerdo a los resultados obtenidos en el porcentaje de sólidos totales tenemos un valor de 2.52% el mismo que se encuentra dentro de los valores establecidos por la USP # 28 en la que nos indica que el límite mínimo es 6%, con ello tenemos un porcentaje considerable de sólidos totales que nos indica que existe una presencia considerable de metabolitos activos presentes en el extracto. (Ochoa, et al., 2015, p. 81)

El contenido etanólico está en relación con la densidad, y es menor que la densidad del agua que tiene 1g/cm<sup>3</sup>.

El índice de refracción obtenido en nuestro caso fue de 1.43, este valor se encuentra cercano al índice de refracción del etanol, valor que disminuye si existe una mezcla con otro solvente. (Martínez & Amado, 2011, p. <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/26092/28753>)

El pH que presentó nuestro extracto es de 5,7, este valor es apto para la aplicación en la piel, debido a que posee un pH de 5.5 a 6, al cumplir con esta característica no podría causar afecciones en la piel, así con un pH cercano al de la piel estamos garantizando que al ser aplicada para el posterior análisis no vaya a interferir en el proceso de cicatrización de la herida, el pH es un parámetro muy importante a tener en cuenta para poder ser aplicado por vía tópica. (D'Santiago, 1996, p. 119)

**Tabla N° 4 -3** Tamizaje fitoquímico del extracto de hojas de *Rumex crispus*. Realizado en el laboratorio de productos naturales. ESPOCH. Riobamba Octubre 2015.

ENSAYO	EXTRACTO ETEREO DE HOJAS DE <i>Rumex</i> <i>crispus</i>	EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE <i>Rumex</i> <i>crispus</i>	EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE <i>Rumex</i> <i>crispus</i>
SUDAN	(-)		
DRAGENDORFF	(-)	(-)	(-)
MAYER	(-)	(-)	(-)
WAGNER	(-)	(-)	(-)
BALJET	(-)	(-)	
CATEQUINAS		(+)	
RESINAS		(-)	
FEHLING		(+)	(+)
LIBERMAN- BUCHARD		(+)	
ESPUMA		(-)	(+)
CLORURO FÉRRICO		(++)	(++)
BORTRANGER		(+++)	
ANTOCIANIDINA		(++)	
SHINODA		(+++)	(++)
PRINCIPIOS AMARGOS			(+)
MUCÍLAGOS			(-)

ESPOCH. Riobamba Octubre, 2015

**Interpretación:** (+++) Elevado contenido del metabolito secundario, (++) Contenido ligero del metabolito secundario, (+) Bajo contenido del metabolito secundario, (-) No existe presencia del metabolito secundario.

**Realizado por:** Andrea Barreno, 2015

En Tabla N° 4-3 se muestran los metabolitos secundarios presentes en los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de hojas de *Rumex crispus*. Así tenemos que de acuerdo a los ensayos realizados para el extracto etéreo no existe presencia de grasas, aceites ni alcaloides, en el extracto etanólico existe una prevalencia de flavonoides, taninos, y finalmente en el extracto acuoso predominan flavonoides, taninos por lo que podemos decir que la presencia de estos componentes posiblemente se le atribuye la actividad cicatrizante de estos compuestos fenólicos.

En estudios realizados por Gómez y Arango los compuestos presentes en todos los estados de *Rumex* corresponden principalmente a flavonoides, quinonas y terpenos. En hojas de *Rumex crispus* hallaron que los compuestos corresponden a flavonoides, 5-deoxiflavonas, 7-8 dihidroxiflavonas, ácidos fenólicos, ferúlico y caféico. Encontraron en las raíces de esta especie, flavonoides, glicósidos de flavonol y ácido sinápico. (Gómez & Arango, 2003, pp. 47-49). De esta manera el tamizaje realizado de las hojas de esta especie coinciden con los estudios realizados en el 2003.

En un estudio realizado para poder conocer la actividad antioxidante de un extracto etanólico los resultados que obtuvieron en el screening fitoquímico encontraron presencia de metabolitos secundarios como antraquinonas, flavonoides, terpenos estos metabolitos concuerdan con los obtenidos en nuestro estudio y de entre ellos el objeto de nuestro estudio fue los flavonoides, porque a ellos se le atribuye la actividad cicatrizante. (Kahraman & Yanardag, 2012, p. 319)

Se observó que existe mayor presencia de flavonoides en el extracto etanólico por lo que se decidió utilizar este extracto para caracterizar los posibles compuestos que se pueden encontrar. De acuerdo a un estudio realizado en Colombia nos indica que los extractos etanólicos de plántulas *Rumex crispus*, permitieron afirmar la existencia de flavonoides, terpenos, sesquiterpenlactonas, quinonas, glicósidos y cumarinas, pero no contenido de alcaloides. También se encontraron en *Rumex* spp. glicósidos de antraquinona con ello podemos decir que los datos obtenidos concuerdan con este estudio realizado en Colombia. (Gómez & Arango, 2003, p. 48)

Castro según una investigación realizada de la especie *Rumex crispus* indica que posee antraquinona como la parietina, a la que se le atribuye una actividad antifúngica. (Castro, et al., 2011, p. 13). Así con los datos obtenidos en el tamizaje fitoquímico nos indica que concuerdan con estudios ya realizados anteriormente ya que en el presente tamizaje hubo presencia de antraquinonas.

**Tabla N° 5 -3** Control microbiológico del extracto de hojas de *Rumex crispus*. Realizado en el laboratorio de microbiología. ESPOCH. Riobamba Octubre 2015.

PARAMETROS	RESULTADOS	REFERENCIA NTE-INEN 2392:2007
Recuento de aeróbios mesófilos	1x10 <sup>3</sup> UFC/g/	1x10 <sup>4</sup> UFC/g
Conteo de Mohos y levaduras	1x10 <sup>4</sup> UFC/g	1x10 <sup>4</sup> UFC/g
Coliformes totales	Ausencia	Ausencia

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

En la tabla N° 5-3 se puede observar que los resultados del análisis microbiológico del extracto se encuentran dentro de los rangos permitidos, así pues tenemos que el recuento de aeróbios mesófilos nos está indicando la calidad sanitaria, condiciones higiénicas que siguió la materia prima y si tuvo una correcta manipulación. (Talero, et al., 2012, p. 115)

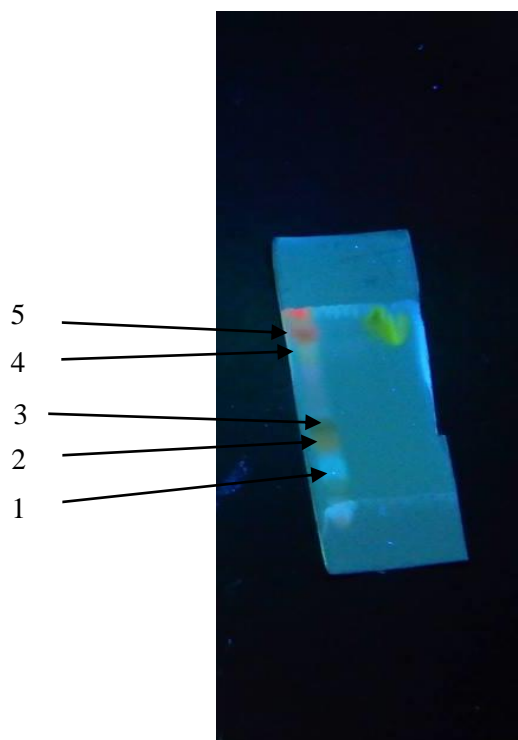
El conteo de mohos y levaduras son indicadores de presencia de contaminación ambiental en nuestro caso cumple con las especificaciones de la norma NTE-INEN 2392:2007, así nos asegura que la droga seca siguió un buen proceso de secado y triturado, ya el molino eléctrico fue desinfectado correctamente, también nos indica que se realizó una buena manipulación durante la realización del extracto, así garantizamos que el extracto cumpla con calidad para la posterior utilización en los ratones para realizar el análisis farmacológico. (Radice & Vidari, 2007, p. 10)

### 3.2. Identificación de metabolitos secundarios.

#### Cromatografía en capa fina (TLC)

Se realizaron cromatografías probando con diferentes sistemas de solventes usados para flavonoides, y en el que se obtuvo mejores resultado fue: Acetato de etilo: Ácido Fórmico: ácido acético glacial: agua: N-metilisobutilcetona (6: 0,5: 0,5: 1: 4). (Wagner, et al., 1984, p. 35)

**Fotografía 1 -3 Cromatografía en capa fina (TLC) de extracto de hojas de *Rumex crispus*. Fase móvil: Acetato de etilo: Ácido Fórmico: ácido acético glacial: agua: N-metilisobutilcetona (6: 0,5: 0,5: 1: 4).**



**Fotografía:** cromatografía en capa fina observada en el UV cercano.  
**Realizado por:** Andrea Barreno, 2015

**Tabla N° 6-3.** Rf obtenidos del TLC del extracto de *Rumex crispus*. Realizado en el laboratorio de productos naturales. ESPOCH. Riobamba Noviembre 2015.

COMPUESTOS	Rf	POSIBLE COMPUESTO
MANCHA 1	0,17	-
MANCHA 2	0,43	Canferol
MANCHA 3	0,49	Rutina
MANCHA 4	0,8	Vitexina
MANCHA 5	0,85	Quercetina

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

En la tabla 6-3. Se observa los posibles compuestos que se obtuvo por cromatografía en capa fina y al ser reveladas por UV se observaron 5 manchas, de acuerdo a los Rf encontrados los posibles compuestos en el extracto de hojas de *Rumex crispus* son, canferol, rutina, vitexina, y Quercetina.

Estos posibles compuestos pertenecen a flavonoides glicosilados como es el caso del Canferol y se le atribuyen propiedades hipoglicemiantes. (Toloz, et al., 2015, p. 24)

Dentro de los flavonoides que previenen la formación de úlceras en modelos experimentales, tenemos el canferol y la quercetina que son los posibles compuestos que se encuentran en el extracto debido a esta propiedad que presentan van a evitar que la cicatrización se vea afectada por algún factor que pueda intervenir durante este proceso. (Toso, 2002, p. 18). De acuerdo con estudios realizados en la especie *Rumex crispus* encontraron flavonoides, y dentro de ellos Isorametina, Canferol, Ramentina y Rutina, en nuestros posibles compuestos y de acuerdo a los Rf que se obtuvo coinciden el Canferol y Rutina con la investigación que mencionamos. (Mahdieh, et al., 2015, p. 18)

En investigaciones acerca de *Rumex crispus* se encontró la presencia de flavonoides y dentro de ellos quercetina, isoramentina, canferol, ramentina y rutina, estos datos se corroboran con datos obtenidos en otras investigaciones, en nuestro caso según los Rf encontrados coinciden con la presencia de quercetina, canferol y rutina en el extracto etanólico que se obtuvo. (Taj, et al., 2014, p. 200) Las propiedades que presenta la quercetina es ser antiinfeccioso así evita la propagación de virus en el cuerpo, esta actividad es muy útil en un proceso de cicatrización, debido a que puede verse afectada si hay presencia de infecciones y esto retrasaría el tiempo de cicatrización de una herida. (Carrion & Garcia, 2010, p. 54)

Dentro de un estudio realizado en el género *Rumex* en su composición encontraron flavonoides como vitexina, isovitexina, orientina, isorientina, y quercetina, nuestros datos no difieren de este estudio debido a que dentro de nuestros posibles compuestos tenemos a la vitexina y quercetina. (Mostafa, et al., 2012, p. 426) Los flavonoides poseen actividad antiinflamatoria como es el caso de la quercetina a la cual se le atribuye esta actividad en extractos de drogas vegetales. (Martino, 2000, p. 306). Dentro de nuestros posibles compuestos tenemos a la quercetina que ayuda a que no se presenten inconvenientes en la cicatrización al poseer propiedades antiinflamatorias.

En estudios realizados en el género *Rumex* demostraron que contiene flavonoides entre ellos vitexina, isovitexina orientina, estos resultados coinciden con los resultados que se obtuvo en esta investigación donde según nuestros posibles compuestos tenemos a la vitexina. (El-Bakry, et al., 2013, pp. 1754-1760)

Dentro de los posibles compuestos tenemos a la quercetina y canferol, estos han sido reconocidos por su actividad antioxidante. (Medina, et al., 2014, p. 22)

De acuerdo a estudios realizados anteriormente la especie *Rumex crispus* posee flavonoides, tales como el catecol, quercetina, vitexina. (Gómez & Arango, 2003, p. 42), coinciden con los resultados obtenidos de acuerdo a los Rf que se encontró e indican presencia de quercetina y



vitexina. A la quercetina se le atribuye propiedades antialérgica, antiespasmódica, antibacteriana, cicatrizante e antiinflamatoria. Además estudios que fueron realizados en modelos de experimentación animal nos indican que poseen una actividad analgésica. (Bonkanka, 2006, p. 28). Por ello la posible presencia de este compuesto en nuestro extracto va a ayudar a que el tiempo de la cicatrización disminuya además al evitar un proceso inflamatorio que es una respuesta inmunológica, debido a la presencia de alguna sustancia extraña va a evitar que el proceso y tiempo de cicatrización se vea afectado.

Con ello podemos decir que en nuestro extracto la presencia de cualquiera de estos posibles tipos de flavonoides brindan al extracto de hojas de *Rumex crispus* una amplia gama de actividades farmacológicas que contribuyen en la investigación como es el caso de propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y analgésica que en el proceso de cicatrización van a ser muy útiles para evitar inconvenientes que se puedan presentar en la herida.

### **3.3. Cuantificación de metabolitos secundarios.**

#### **Cuantificación de flavonoides totales**

Se cuantificaron los flavonoides totales expresados como quercetina, se realizó una curva de calibración con quercetina como estándar, variando las concentraciones

Mediante la ecuación de la curva se calculó la concentración de flavonoides presentes en el extracto obtenido, partiendo de la absorbancia resultante, luego de una lectura en el espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 510 nm. La curva de calibración realizada se la detalla a continuación:

La gráfica N° 1-3 de la curva de calibración se la puede observar en el anexo X, en donde una vez interpolado los datos de la muestra leída, se obtuvo una concentración de 5,4 mg/g del extracto de hojas de *Rumex crispus*. Los valores obtenidos indican la presencia de flavonoides expresados como quercetina en la muestra, en una cantidad significativa que van a ayudar a la cicatrización de las heridas ya que este es uno de los compuestos que posee actividad cicatrizante

#### **Cuantificación de fenoles totales**

Se cuantificaron los fenoles totales expresados como gramos de ácido gálico, para ello se realizó una curva de calibración con ácido gálico, variando las concentraciones, y mediante la ecuación

de la curva se calculó la concentración de fenoles totales presentes en el extracto obtenido, a una longitud de onda de 765 nm. La curva de calibración se realizó en un espectrofotómetro UV se la detalla a continuación:

Podemos observar la gráfica N° 2-3 ubicado en el anexo Y la curva de calibración, una vez interpolado los datos obtenidos de las absorbancias de la muestra leída, se obtuvo una concentración de 7 mg/g del extracto de hojas de *Rumex crispus*. Los valores obtenidos indican la presencia de fenoles totales expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramos de muestra seca, se encuentran en mayor cantidad que los flavonoides, ya que aquí se encuentran todos los compuestos fenólicos presentes en el extracto y a ellos se debe su actividad farmacológica.

### 3.4. Actividad cicatrizante del extracto de hojas de *Rumex crispus*.

**Tabla N° 7-3.** Actividad cicatrizante de la longitud en cm de la herida con los diferentes tratamientos aplicados. Realizado en el Bioterio. ESPOCH. Riobamba Noviembre 2015

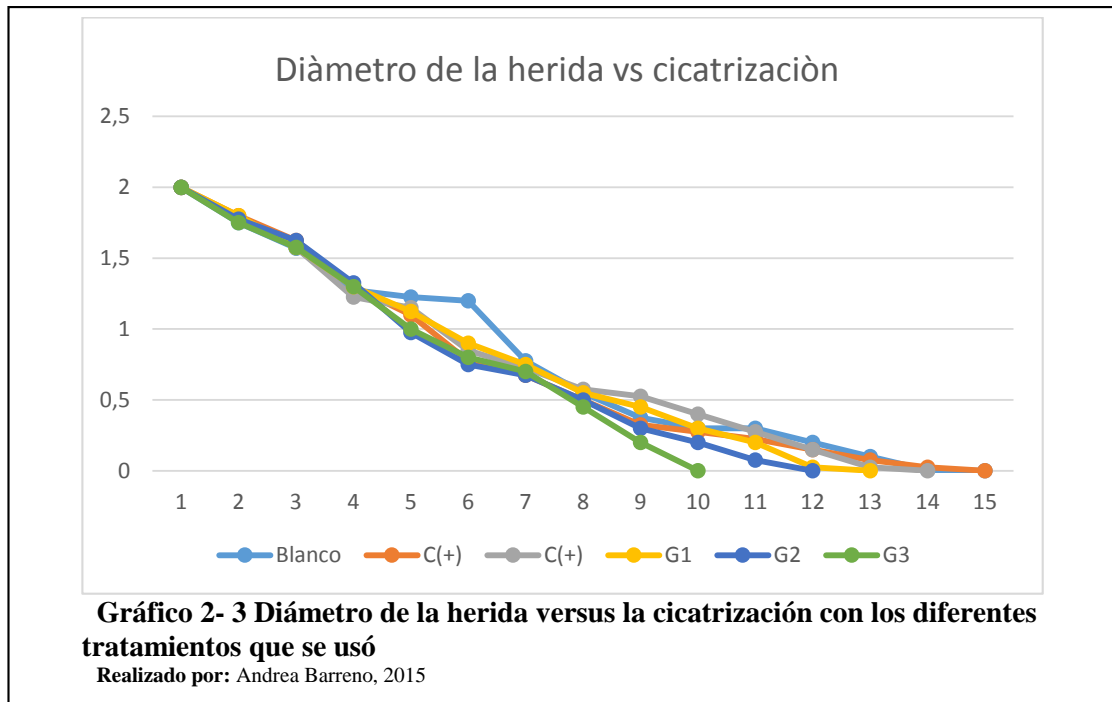
DI	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Desves
AS	t													
<b>B</b>	1,75 ±0,5	1,57 ±0,5	1,275 ±0,5	1,225 ±0,5	1,2± 0,5	0,775 ±0,5	0,55 ±0,5	0,375 ±0,5	0,3± 0,5	0,3± 0,5	0,2± 0,5	0,1± 0,5	0,0 05	0,5945 04211
<b>C+</b>	1,8± 0,5	1,625 ±0,5	1,3± 0,5	1,1± 0,5	0,775 ±0,5	0,675 ±0,5	0,5± 0,5	0,325 ±0,5	0,275 ±0,5	0,225 ±0,5	0,15 ±0,5	0,075 ±0,5	0,0 25	0,6001 86937
<b>C+</b>	1,775 ±0,5	1,575 ±0,5	1,225 ±0,5	1,15 ±0,5	0,85 ±0,5	0,725 ±0,5	0,575 ±0,5	0,525 ±0,5	0,4± 0,5	0,275 ±0,5	0,15 ±0,5	0,025 ±0,5	0 ±0,5	0,5590 00054
<b>G1</b>	1,8± 0,5	1,575 ±0,5	1,3± 0,5	1,125 ±0,5	0,9± 0,5	0,75 ±0,5	0,55 ±0,5	0,45 ±0,5	0,3± 0,5	0,2± 0,5	0,025 ±0,5	0 ±0,5		0,5797 92283
<b>G2</b>	1,775 ±0,5	1,625 ±0,5	1,325 ±0,5	0,975 ±0,5	0,75 ±0,5	0,675 ±0,5	0,5± 0,5	0,3± 0,5	0,2± 0,5	0,075 ±0,5	0 ±0,5			0,5941 61407
<b>G3</b>	1,75 ±0,5	1,575 ±0,5	1,3± 0,5	1±0, 5	0,8± 0,5	0,7± 0,5	0,45 ±0,5	0,2± 0,5	0 ±0,5					0,5410 69955

Donde: B es el blanco sin ningún tratamiento, C(+) tratamiento con sulfato de neomicina + acetato de prednisolona, C(+) Tratamiento con etanol al 40%, G1 Extracto de *Rumex crispus* al 25%, G2 Extracto de *Rumex crispus* al 50%, G2 Extracto de *Rumex crispus* al 75%

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

En la tabla N° 7-3 se observa una diferencia significativa entre el blanco con el tercer tratamiento que corresponde al extracto de hojas de *Rumex crispus* al 75%; al igual que existe una diferencia entre el blanco al que no se le aplicó ningún tratamiento con el extracto de hojas de *Rumex crispus* a una concentración del 75%, con esto podemos decir que el extracto que tuvo mejores resultados en la cicatrización de heridas fue el extracto a una concentración de 75%.

**Gráfico 1- 3** Diámetro de la herida versus la cicatrización con los diferentes tratamientos que se usó.



En el Gráfico N° 1-3 se puede observar que el tratamiento G3 es decir el extracto de hojas de *Rumex crispus* posee mejor eficacia de acuerdo al tiempo de cicatrización ya que existe un decrecimiento de la curva al llegar al décimo día donde la herida de 2 cm de longitud ya se cicatrizó, en comparación con los otros tratamientos que existe un decrecimiento pero a más días de aplicación de tratamiento.

### 3.5. Realización del análisis histopatológico del tejido cicatricial.

#### Análisis Histopatológico

El estudio histopatológico forma una parte importante en el diagnóstico de tejidos los cuales tienen que ser extirpados para su análisis.

Este tipo de diagnóstico histopatológico incluye un análisis macro y microscópico.

De cada grupo de análisis tratado con el protocolo farmacológico se realizó un corte para que sea analizado.

**Tabla N° 8 -3.** Análisis histopatológico de los seis grupos de investigación. Realizado en SOLCA Riobamba. Facultad de Ciencias ESPOCH. Riobamba Diciembre 2015

GRUPOS	PMN	LINFOCITOS	EDEMA	T. CONJUNTIVO	%CICATRIZACIÓN /FIBROSIS	ANEXOS PILOSEBASEOS
<b>B</b>	-	+	+++	+	+++	+++
<b>C(+)</b>	-	+	+	++	+++	++
<b>C(+)</b>	-	+	++	+	+++	++
<b>G1</b>	-	+	++	+	+++	+
<b>G2</b>	+	+	++	+	+++	+++
<b>G3</b>	-	+	+	++	+++	++

**Dónde:** B (blanco sin tratamiento), C(+) (Sulfato de Neomicina+ Acetato de prednisolona), C(+) ( Etanol 40%), G1 (Extracto de hojas de *Rumex crispus* 25%), G2 ( Extracto de hojas de *Rumex crispus* 50%), G3 ( Extracto de hojas de *Rumex crispus* 75%).

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

En la tabla N° 8-3 se puede observar que tanto en el grupo que se utilizó sulfato de neomica + acetato de prednisolona así como el extracto al 75% no existe presencia de polimorfonucleares ni edema. Podemos indicar que una característica muy importante en un proceso de inflamación aguda inducidas por procesos inmunológicos es la acumulación de polimorfos nucleares en el lugar donde ocurre la reacción (Torres Leyva, et al., 2004, pp. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892004000200003#autor](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000200003#autor)). Con ello podemos indicar de acuerdo a estos dos factores analizados se obtuvo mejores resultados en los grupos antes mencionados

Otro de los factores a analizar es el proceso de reparación en el cual se da la regeneración o sustitución de células lesionas por otras que pertenezcan a la misma clase y la sustitución por tejido conjuntivo debido a esto el grupo que presenta mayor presencia de tejido conjuntivo es el grupo al que se le aplicó sulfato de neomicina + acetato de prednisolona al igual que el extracto al 75%. Ya que con una reparación de tejido nos indica que el proceso de cicatrización fue efectivo. (Alba & Bonilla, 2009, pp. 30-31)

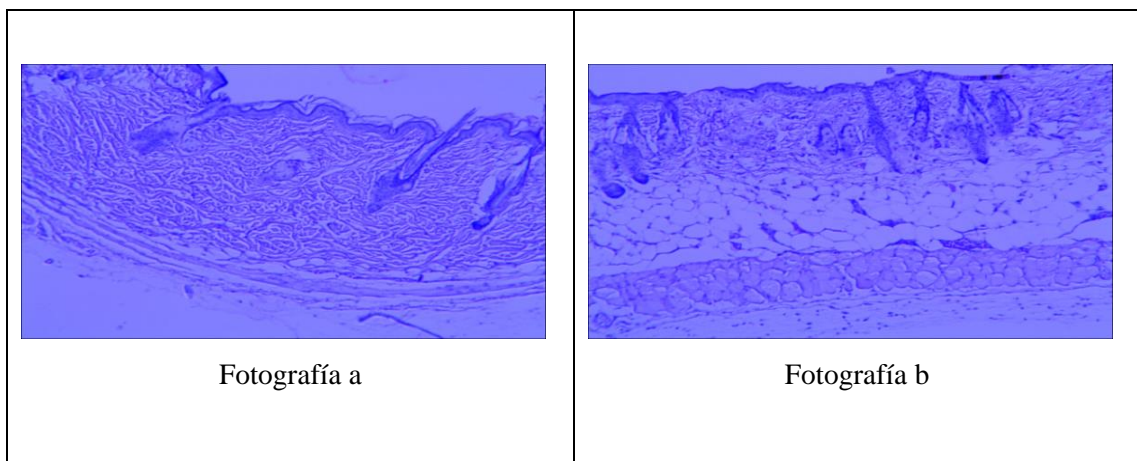
Dentro de los factores analizados se encuentra el tejido fibroblástico el cual se combina con la regeneración de células del tejido afectado y se da la proliferación del tejido fibroblástico para de esta manera tener óptimos resultados en la cicatrización. (Méndez & Montalvo, 2008, p. 209)

Para que se pueda dar la síntesis de colágeno tenemos a los fibroblastos, estos son los responsables de que en 72 horas después de haberse realizado una herida comienzan a sintetizar colágeno para que su pueda lograr una reparación exitosa. Debido a ello ya que tenemos mayor presencia de tejido fibroblástico en el grupo al que se le aplicó sulfato de neomicina + acetato de prednisolona al igual que el extracto al 75% en ellos se puede dar una mejor reparación de los tejidos. (Alcántara & Castell, 2009, pp. 82-83).

Existe un porcentaje considerable de tejido conjuntivo tanto en el grupo al que se le aplicó sulfato de neomicina + acetato de prednisolona, este tejido es el que se encarga de la reorganización para promover la formación de tejido definitivo. (Torra, et al., 2000, p. 719)

Con lo antes mencionado podemos decir que el mejor tratamiento del protocolo farmacológico usado fue B que en nuestro caso fue el fármaco que contiene sulfato de neomicina mas acetato de prednisolona y G3 el extracto de hojas de *Rumex crispus* al 75% ya que de acuerdo a los parámetros que fueron analizados en el corte histológico ambos grupos tuvieron mejores resultados en cuanto a la calidad del tejido conjuntivo, tejido fibroblástico, y presencia de edema y polimorfonucleares

**Fotografía N° 2-3** Análisis histopatológico de la calidad del tejido cicatricial de los mejores tratamientos obtenidos.



**Fotografías a)** análisis histopatológico del tejido con tratamiento de sulfato de neomicina + acetato de prednisolona,

**b)** análisis histopatológico del tratamiento con extracto de *Rumex crispus* al 75%

**Realizado por:** Andrea Barreno, 2015

### 3.6. Análisis estadístico.

**Tabla N° 9-3** Análisis estadístico con programa SPSS de los resultados obtenidos, tratamientos utilizados con respecto a la velocidad de cicatrización

#### ANOVA

##### VELOCIDAD

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,010	5	,002	2,900	,020
Dentro de grupos	,045	65	,001		
Total	,055	70			

Realizado por: Andrea Barreno, 2015.

En la tabla N° 9-3 Se encuentran los resultados obtenidos en el análisis estadístico de ANOVA se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos ya que p posee un valor menor de 0,05 que en nuestro caso es 0,020

**Tabla 10-3** Análisis estadístico TUKEY con programa SPSS

#### VELOCIDAD

##### Tukey B<sup>a,b</sup>

TRAT	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
B	13	,1930	
C(+)	13	,1981	
C(+)	13	,1988	
G1	12	,2007	
G2	11	,2151	,2151
G3	9		,2301

Realizado por: Andrea Barreno, 2015

En la tabla N° 10-3 se puede observar que dos de los tratamientos utilizados en el protocolo farmacológico son diferentes es decir el grupo 2 y 3 en el que se utilizó extracto de hojas de *Rumex crispus* a 50% y 75%, y es significativamente diferente el tratamiento del grupo tres con respecto a los otros tratamientos utilizados, con ello podemos decir que existe diferencia entre la cicatrización con los diferentes tratamientos usados. Debido a que de acuerdo a la velocidad de cicatrización en cada grupo existe variación de acuerdo a los días que se obtuvo la cicatrización

pero el que presento mayor diferencia en comparación con los otros tratamientos fue el G3 ya que este tratamiento fue efectivo.

## CONCLUSIONES

- Para el control de calidad se realizó un análisis de humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico esto para la droga cruda; en el extracto de hojas de *Rumex crispus* se midió el pH, índice de refracción, densidad y finalmente extracto etéreo se obtuvo valores de 5,7, 1,43, 0,86 mg/l y 2.57% respectivamente estos parámetros cumplieron con la USP # 28 También un análisis microbiológico el cual se encontró dentro de los límites permitidos por la norma NTE INEN 2392-2007.
- Al realizar el tamizaje fitoquímico se encontró cualitativamente mayor presencia de metabolitos secundarios en el extracto etanólico como catequinas, azúcares reductores, triterpenos y esteroides, quinonas, fenoles, taninos, flavonoides. En el extracto acuoso se encontró Azúcares reductores, saponinas, taninos, flavonoides.
- Al realizar la cromatografía de capa fina y hallar los Rf de las manchas que aparecieron, nuestros posibles compuestos son canferol, rutina, vitexina y quercetina.
- Mediante la cuantificación de flavonoides se obtuvo una concentración de 5,4 mg/g expresados como quercetina y una concentración de fenoles totales de 7 mg/g expresados como ácido gálico podemos decir que las cantidades presentes de ambos compuestos en el extracto de hojas de *Rumex crispus* es representativa, encontrándose en mayor cantidad los fenoles totales.
- Al aplicar el protocolo farmacológico se pudo observar que el extracto a una concentración de 75% tuvo mejores resultados en cuanto a la disminución de los días de cicatrización que fue en nueve días comparándolo con el grupo que no recibió ningún tratamiento que tardó quince días.
- El tratamiento que obtuvo una buena calidad de tejido cicatricial fue al que se le aplicó la crema que contiene sulfato de neomicina + acetato de prednisolona ya que no presenta inflamación, edema y posee una cantidad considerable de tejido conjuntivo así como también tejido fibroso, seguido del tratamiento con extracto de hojas de *Rumex crispus* a una concentración de 75% ya que no posee inflamación, sin presencia de edema y existe una cantidad considerable de tejido conjuntivo y fibroso que son necesarios durante un proceso de reparación que es indicativo de que la cicatrización fue efectiva



## RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar esta investigación con mezclas de especies para de esta manera observar si la presencia de los metabolitos que poseen otras especies potencian su efecto y se obtienen resultados mucho mejores.
- Se recomienda realizar estudios de citotoxicidad para de esta manera poder garantizar que el extracto de hojas de *Rumex crispus* es seguro para el uso en preparaciones herbolarias o de fitomedicamentos.
- Se recomienda hacer estudios de otras partes de esta especie para de esta manera poder conocer si existen los mismos metabolitos secundarios y si se encuentran en mayor concentración, y así saber si pueden presentar alguna actividad farmacológica que nos pueda brindar beneficios al usarla

## BIBLIOGRAFIA

1. **ALBA, G. A. & BONILLA, R. P.**, "Actividad cicatrizante de una pomada con aceite esencial de schinus molle l. Molle en ganado vacuno con heridas infectadas y en ratones.. *Ciencia e investigaciòn. vol 12, n° 1 (2009 )*, ( Mexico D.F) pp. 30-31.
2. **ALCÁNTARA, Q. L. & CASTELL, R. A.**,. "La cicatriz hipertrófica posquemadura ¿un problema de salud?". *Redalyc* , vol 28, n° 3, (2009), (Mexico D.F) pp. 82-83.
3. **ALIAGA, P. A. & CAMPS, M. M.**, "Guía de antisepsia. Atención Farmacéutica en las heridas leves", *info Salvat.*, vol 2, n° 6, (2005), (Colombia) pp. 8-14.
4. **ALLEVATO, M. A.**, "Sistemas terapéuticos transdérmicos". *Journal of Magnetic Resonance* [en línea],(2007), (Venezuela), 2(6) pp 34-37 [Consultado: 14 Septiembre 2015] ISSN 1291-77704 Disponible en: <[http://www.atdermae.com/pdfs/atd\\_30\\_03\\_02.pdf](http://www.atdermae.com/pdfs/atd_30_03_02.pdf)>
5. **ÁLVAREZ, P. M. B. & ÁLVAREZ, G. A. M.** "Heridas. Cicatrización por tercera intención, a propósito de un caso".. *Paraninfo digital* [en línea], 2014, (Mexico D.F) 20 (1), p 6 [Consultado: 03 de Octubre 2015].ISSN 1988-3439. Disponible en: < <http://www.index-f.com/para/n20/pdf/304.pdf> >.
6. **ACEDERA.** "*Acedera (Rumex crispus)*", Barcelona [Fecha de ediciòn: 25/05/2010], Toxiconet, [Consultado: 14 Septiembre 2015] Disponible en: <<http://www.murciasalud.es/toxiconet.php?iddoc=184381&idsec=4014>>
7. **FITOTERAPIA.**" Fitoterapia". Barcelona [Fecha de ediciòn: 16/02/2015], La pagina de la vida, [Consultado: 10 Octubre 2015]. Disponible en: <<http://www.fitoterapia.net/publicaciones/biblioteca/manual-fitoterapia.-barcelona-elservier-2015-1729.htm>>l
8. **PLANTAS MEDICINALES.** "*Plantas medicinales*" [blog], (Mexico), [Fecha de ediciòn: 02/2/2013], [Consultado: 02 de Octubre 2015], Disponible en: <<http://plantasmedicinalesecuador.blogspot.com/2013/02/plantas-medicinales-y-su-poder-curativo.html>>

9. **AVELLO, M. & CISTERNAS.** "Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile", *Revista Medica Chile* [en línea] 2010, (Chile),138,(10), (2010), pp. 1288-1293, [Consultado: 12 de Octubre 2015], ISSN 0034-9887. Disponible en: <[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872010001100014](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872010001100014)>
10. **AZIZ, A, et al** "Studies from Faisalabad University of Agriculture Reveal New Findings on Complementary and Alternative medicine", *Health & Medicine Wee* (Evaluation Of Wound Healing Potential Of Rumex Vesicarius L. Leaf Extract And Fractions In Rabbit), vol 12, n° 2 (2015), (España) pp. 60-64.
11. **BAQUERO,A, et al,**"Situación Actual del Comercio de Plantas Medicinales en Venezuela: Potencialidades y Amenazas", *Revista Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales* [en línea], 2009 (Venezuela), 8(1), p. 26 . [Consultado: 10 de Octubre 2015], ISSN: 0717-7917. Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85680106>>
12. **BENAVIDES, J.** "Reparación de heridas cutáneas", *Revista asociación Colombiana de Dermatología* , [en línea], (2008) (Colombia),1(5), pp. 29-35, [Consulta: 11 de Octubre 2015], ISSN: 0738-7411. Disponible en: <<http://revistasocolderma.org/files/Articulo%20de%20revision%20-%20reparacion%20de%20heridas.pdf>>.
13. **BENDAZZOLI, W. S.**"Fitomedicamentos: perspectivas de rescate de una terapia", *Bireme*, [en línea], 2000, (Brazil), 2(24), p. 123, [Consultado: 11 de Octubre 2015], ISSN 264204, Disponible en: <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=264204&indexSearch=ID>> .
14. **BONKANKA, T. C. X.** "*Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal*".[en línea] (Tesis) (Doctoral), Universidad de La Laguna-Caja Canarias, Departamento de Biología, Facultad de Farmacia, (Madrid-España), (2006), [Consultado: 02 de Noviembre 2015] Disponible en: ><ftp://h3.bbt.ull.es/ccppytec/cp282.pdf><.
15. **BOUKHRIS, M, et al.** "Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of rose-scented geranium, *Pelargonium graveolens*". *Published*

*Phytotherapy* [en línea], 2006, (España), 4(2), pp. 1-8, [Consultado: 11 de Octubre 2015], ISSN 233607, Disponible en: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23027699>>

16. **CALDERON, P. F. Y.** "Elaboración y control de calidad de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de berro (*nasturtium officinale*) y llantén (*plantago major*) y comprobación de su actividad cicatrizante en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*)" [en línea] (tesis pregrado) ESPOCH, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, (Riobamba-Ecuador), (2013), [Consultado: 20 de Octubre 2015]. Disponible en: <<http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/2473/1/56T00343.pdf>>

17. **CAÑIGUERAL, S.** "La fitoterapia: ¿una terapéutica para el tercer milenio?". *Revista de Fitoterapia* [en línea], 2002, (Mexico D.F), 2(2), p. 105, [Consultado: 13 de Octubre 2015], ISSN 1576-0952. Disponible en: <[https://www.researchgate.net/publication/228863288\\_La\\_Fitoterapia\\_una\\_terapeutica\\_para\\_el\\_tercer\\_milenio](https://www.researchgate.net/publication/228863288_La_Fitoterapia_una_terapeutica_para_el_tercer_milenio)>.

18. **CARRANZA, E. E.** "Anatomía de la piel" [blog], Perú: [fecha de edición: 2006-04-16], 2010. [Consultado: 14 de Septiembre 2015]. disponible en: <<http://antoniorondonlugo.com/blog/wp-content/uploads/2010/05/157-anatomia-de-la-piel.pdf>>

19. **CARRIÒN, J. A. V. & GARCÍA, G. C. R.** "Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica" (Tesis pregrado), Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Bioquímica y Farmacia, (Cuenca- Ecuador), 2010, p 54 [Consultado: 13 de Octubre 2015]. Disponible en: <<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>>.

20. **CASTRO, M. O, et al** "Aislamiento de ácido úsico y parietina de *Caloplaca saxicola* Hoffm", *Eciperu*, [en línea], 2011, (Perù), 77(2), p 13. [Consultado: 09 de Octubre 2015], ISSN 21310-100. Disponible en: <<http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v77n2/a08v77n2.pdf>>

21. **CEA, R.** "Fitofármacos". [en línea], El Salvador: Alonso Jorge, [Fecha de edición: 2013-11-10], [Consultado: 09 de Octubre 2015]. Disponible en: <<http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/Cea2013.pdf>>

22. **CERVANTES, L. & TORRES, B.** "Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana". [En línea], México, [Fecha de edición: 2013-10-06], [Consultado: 14 de Septiembre

2015]. Disponible en: <<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7408>>.

23. **D'SANTIAGO, L.** "El pH de los jabones". *Dermatologia venezolana* [en línea], 1996, (Venezuela) 34(3), p 119, [Consultado: 12 de Octubre 2015], ISSN 9544-545. Disponible en: <<http://svderma.org/revista/index.php/ojs/article/view/558/544>>

24. **DE LA TORRE, L,et al.** "*Usos medicinales de las plantas*" [en línea]. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador, Cuba, [fecha de edición: 2008-11-02], [Consultado: 09 de Octubre 2015]. Disponible en: <[http://www.ecured.cu/Uso\\_de\\_plantas\\_medicinales](http://www.ecured.cu/Uso_de_plantas_medicinales)>.

25. **GONZALES, E,& JIMENEZ,R.** "*Estandarización de un modelo biológico in vivo para detección de actividad cicatrizante de extractos vegetales*".[En línea] La Paz, [fecha de edición: 2008-09-11]. [Consultado: 15 de Septiembre 2015]. Disponible en: <<http://www.ops.org.bo/textocompleto/rnbiofa93020203.pdf>>.

26. **EL-BAKRY, A, et al.** "Antibacterial and antioxidant activities of seedlings of *Rumex vesicarius* L. (Polygonaceae)", *Journal of Medicinal Plants Research*, [en línea], 2013, (Egipto), 7 (24), pp. 1754-1760. [Consultado: 11 de Octubre 2015].ISSN 1996-0875. Disponible en: <[http://www.academicjournals.org/article/article1380788953\\_El-Bakry%20et%20al.pdf](http://www.academicjournals.org/article/article1380788953_El-Bakry%20et%20al.pdf)>.

27. **GERAIS, A.** "Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no brasil".. *Quim Nova revista* [en línea], 2001, (Brazil), 24 (1), p 151 [Consultado: 08 de Octubre 2015]. ISSN 88040-900. Disponible en: <[http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/Vol24No1\\_147\\_24.pdf](http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/Vol24No1_147_24.pdf)>.

28. **GÓMEZ, C. & ARANGO, R.** "Algunos estudios de alelopatía de *Rumex crispus* L. y *Polygonum segetum* HBK", *Corpoica*, [en línea], 2003, (Colombia), 4 (1), pp. 47-48 [Consultado: 11 de Octubre 2015]. ISSN 2235-6758. Disponible en: <<https://sipai.v.files.wordpress.com/2008/05/algunos-estudios-de-alelopatia-de-rumex-crispus.pdf>>.

29. **GÓMEZ, G. B. & ESCOBAR, A.** "Estrés y sistema inmune" *Revista Mexicana de Neurociencia* [en línea], 2006, (Mexico D.F) 7(1), p 35. [Consultado : 12 de Octubre 2015]. ISSN. 2151-1123 Disponible en: <<http://revmexneuroci.com/wp-content/uploads/2014/06/Nm061-05.pdf>>.

30. **HIDALGO, O.** "*Determinación del efecto cicatrizante acuetaanólico de la planta Bacopa procumbens en la línea celular 3T3 de fibroblastos de ratón*". (Tesis Maestría). Instituto Politécnico Nacional. Escuela de Medicina y Homeopatía.. (Mexico-México D.F). 2010 pp : Sección de Estudios de Post grados e investigaciones. [Consultado: 10 de Octubre 2015]. Disponible en: <<http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/7502/1/DETEREFECTO.pdf>>.
31. **HOOGESTEGER, C.** "*Uso de plantas medicinales*". [en línea] 5 ed. Mexico D.F-Mexico: Editorial Arbol, 1994. [Consultado: 03 de Octubre 2015]. Disponible en: <[https://books.google.com.ec/books?id=xpYm5NRHY8AC&pg=PP1&lpg=PP1&dq=uso+de+plantas+medicinales+cornelio+hoogesteger&source=bl&ots=z6ZzK4oog0&sig=W7II-NNm7ZCO\\_wfvyz6esRq3yow&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjH5L7wsbLKAhVH4yYKHYBjBy0Q6AEIHzAC#v=onepage&q=uso%20de%20plantas%20medicinales%20cornelio%20hoogesteger&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=xpYm5NRHY8AC&pg=PP1&lpg=PP1&dq=uso+de+plantas+medicinales+cornelio+hoogesteger&source=bl&ots=z6ZzK4oog0&sig=W7II-NNm7ZCO_wfvyz6esRq3yow&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjH5L7wsbLKAhVH4yYKHYBjBy0Q6AEIHzAC#v=onepage&q=uso%20de%20plantas%20medicinales%20cornelio%20hoogesteger&f=false)>.
32. **HUA, H. & TEIK, L.** "Quantification of polyphenolic content and bioactive constituents of some commercial rice varieties in Taiwan". *sciencedirect* [en línea], 2012, (Taiwan) 26(1), pp. 122-127. [Consultado: 06 de Octubre 2015].ISSN 0889-1575. Disponible en: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157512000506>>.
33. **INSTITUTO NACIONAL DE SALUD.** "*Guía de manejo y cuidado de animales de Laboratorio. Ratón*". Ministerio de Salud [en línea], 2008.. (Lima, Perú) [Consultado: 06 de Octubre 2015].Disponible en: <<http://www.conicyt.cl/fondecyt/files/2012/10/Gu%C3%ADa-para-el-Cuidado-y-Usode-los-Animales-de-Laboratorio.pdf>>.
34. **JARAMILLO, G. A.**"*Plantas medicinales en los jardines de las veredas Mancilla, la tribuna, pueblo viejo y tierra morada (Facatativa Cundinamarca)*" (Tesis) ( maestría o doctoral).Pontifica Universidad Javeriana Facultad de Ciencias. Carrera de Biología (Bogota D.C- Colombia). 2003, p 81 [Consultado: 10 de Octubre 2015]. Disponible en: <<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis52.pdf>>.
35. **KAHRAMAN, S. & YANARDAG, R.** "Antioxidant activity of ethanolic extract from rumex cristatus dc".*International journal of electronics; mechanical and mechatronics engineering* [en línea], 2012, (país) 2(4), p 319. [Consultado: 11 de Octubre 2015]. ISSN 2345-6131. Disponible en:<<http://www.aydin.edu.tr/ijemme/articles/vol2num4/3.-antioxidant-activity-of-ethanolic-extract-from-rumex-cristatus-dc.pdf>>.

36. **KUKLISKI, C.** "*Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*". primera edición. Madrid-España: Editorial Omega S.A, 2003 de edición. [Consultado: 12 de Octubre 2015]. Disponible en: < <http://www.amazon.com/Farmacognosia-Spanish-Edition-Claudia-Kuklinski/dp/8428211914> >.
37. **LIZCANO, S, et al.** "Estudio exploratorio de mercado para Lippia alba como alternativa de producción sostenible en la cuenca media y baja del Rio Las Ceibas, Neiva Colombia".. *Revista Ingenieria y Región* [en línea], 2015, (país) 13 (1), p. 126 [Consultado: 16 de Octubre 2015], ISSN 1190-1459 Disponible en: <[https://www.researchgate.net/publication/281840186\\_Estudio\\_exploratorio\\_de\\_mercado\\_para\\_Lippia\\_alba\\_como\\_alternativa\\_de\\_produccion\\_sostenible\\_en\\_la\\_cuenca\\_media\\_y\\_baja\\_del\\_Rio\\_Las\\_Ceibas\\_Neiva\\_Colombia](https://www.researchgate.net/publication/281840186_Estudio_exploratorio_de_mercado_para_Lippia_alba_como_alternativa_de_produccion_sostenible_en_la_cuenca_media_y_baja_del_Rio_Las_Ceibas_Neiva_Colombia)>.
38. **LOCK DE UGAZ, O.** "*Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales*". 2da ed.Lima-Peru: Fondo, 1994, pp 114-117 .
39. **LÓPEZ, L. M. T.** "Flavonoides", *Offarm* .[en línea], 2002, (Madrid) 21 (4), pp.108-113. [Consultado: 03 de Octubre 2015]. ISSN 2451-5337. Disponible en: <[http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet?\\_f=10&pident\\_articulo=13028951&pident\\_usuario=0&pcontactid=&pident\\_revista=4&ty=119&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=4v21n04a13028951pdf001.pdf](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13028951&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=4&ty=119&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=4v21n04a13028951pdf001.pdf)>.
40. **MAHDIEH, M, et al.** "Studies of in vitro Adventitious Root Induction and Flavonoid Profiles in *Rumex crispus*", *Scientific & Academic Publishing* [en línea] 2015, (Madrid), 5(3), pp. 53-57, [Consultado: 03 de Octubre 2015], ISSN: 2163-1387. Disponible en: < <http://article.sapub.org/10.5923.j.als.20150503.01.html> >.
41. **MARTÍNEZ, R. M. & AMADO, G. E.** "Indices de refracción, densidades y propiedades derivadas de mezclas binarias de solventes hidroxilicos con líquidos iónicos (1-etil-3-metilimidazolio etilsulfato y 1-metil-3-metilimidazolio metilsulfato)" *Revista Colombiana de Química* [en línea], 2011, (Colombia) 40 (2), pp.250-254 [Consultado: 13 de Octubre 2015]. ISSN. 0120-2804 Disponible en: < <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309026687005>>.
42. **MARTINO, V.,** 2000. "Los Flavonoides como Promisorios Agentes Preventivos y Terapéuticos". *Acta Farnz Bonaerense* [en línea], 2000, (Buenos Aires) 19 (4), p 306.

[Consultado: 25 de Septiembre 2015].ISSN. 0326-2383 Disponible en: <[http://www.latamjpharm.org/trabajos/19/4/LAJOP\\_19\\_4\\_3\\_1\\_34V5L4749H.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/19/4/LAJOP_19_4_3_1_34V5L4749H.pdf) >.

43. **MEDINA, M. J. R, et al.** 2014. "Revisión de flavonoides identificados en el género *Physalis* (Solanaceae), su capacidad antioxidante e importancia como marcadores químicos".*Revista Naturaleza y desarrollo* [en línea], 2014, (Durango-Mexico) 12(1), p 22. [Consultado: 26 de Septiembre 2015]. ISSN. 1665-85-31 Disponible en: <[https://www.researchgate.net/publication/278675867\\_Revision\\_de\\_flavonoides\\_identificados\\_en\\_el\\_genero\\_Physalis\\_Solanaceae\\_su\\_capacidad\\_antioxidante\\_e\\_importancia\\_como\\_marcadores\\_quimicos](https://www.researchgate.net/publication/278675867_Revision_de_flavonoides_identificados_en_el_genero_Physalis_Solanaceae_su_capacidad_antioxidante_e_importancia_como_marcadores_quimicos)>.

44. **MÉNDEZ, M. M. G. & MONTALVO, J. E. E.** "Efecto cicatrizante de la pomada preparada con *Dorstenia drakena* L. (Moraceae) en heridas cutáneas". *Cirujano General*, [en línea], 2008, (Mexico D.F-Mexico) 30 (4), p 209 [Consultado: 28 de Septiembre 2015]. ISSN. 2475-87-22 Disponible en: <<http://www.medigraphic.com/pdfs/cirgen/cg-2008/cg084e.pdf> >.

45. **MIRANDA, M.** "*Farmacognosia y productos naturales.(Normas Ramales. De drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP*". Segunda ed. La Habana-Cuba: Limusa, 2006, p 39.

46. **MONDRAGÓN, P. J.** "*Polygonaceae*". [En línea]. Mexico D.F: Heike Vibrans, [Fecha de edición: 2009-08-23]. [Consultado: 14 de Octubre 2015].Disponible en:<<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/polygonaceae/rumex-crispus/fichas/ficha.htm>>

47. **MOSTAFA, H, et al.** "Evaluation of antibacterial activity of different plant parts of *Rumex vesicarius* l. at early and late vegetative stages of growth".*International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences revista* [en línea], 2012, (Estados Unidos) 4 (4), p 426. [Consultado: 13 de Octubre 2015]. ISSN 0975-1491. Disponible en: <<http://connection.ebscohost.com/c/articles/82072748/evaluation-antibacterial-activity-different-plant-parts-rumex-vesicarius-l-early-late-vegetative-stages-growth>>.

48. **MULISA, E.** "Evaluation of Wound Healing Activity of Rhizomes of *Rumex abyssinicus* J in mice". *Biomed central*[en línea], 2011, (Buenos Aires) 15 (34). [Consultado: 03 de Octubre 2015]. ISSN 1472-6882. Disponible en: <<http://download.springer.com/static/pdf/773/art%253A10.1186%252Fs12906-015-0878-y.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Flink.springer.com%2Farticle%2F10.1186%2Fs12906-015->



0878-

y&token2=exp=1453132600~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F773%2Fart%25253A10.1186%25252Fs12906-015-0878-

y.pdf%3ForiginUrl%3Dhttp%253A%252F%252Flink.springer.com%252Farticle%252F10.1186%252Fs12906-015-0878-

y\*~hmac=c947f6d0919c9ab90a95c226139fde22f85cbdeb8a811e49e847dbda90803133>

49. **NOGALES, L. M.** "*Vías de administración de medicamentos*". [En línea] Salamanca [Fecha de edición 2013-04-06]. [Consultado: 03 de Octubre 2015]. Disponible en: <<http://farmaciamarcos.es/vias-de-administracion-de-medicamentos/>>

50. **NOGUÉ, S, et al.** "*Intoxicaciones por plantas y setas*".[en línea].Barcelona: [Fecha de edición: 2009-09-12]. [Consultado: 09 de Octubre 2015]. Disponible en: <[http://www.fetoc.es/asistencia/intoxicaciones\\_plantas\\_y\\_setas\\_completo\\_2009.pdf](http://www.fetoc.es/asistencia/intoxicaciones_plantas_y_setas_completo_2009.pdf)> .

51. **NORMAS RAMALES PARA DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309,311,312, MINSAP 1992, 1992.** Cuba. Imusa. pp 41.

52. **OCAÑA, H. A, et al.** "*Aplicación por vía tópica*". [En línea] (Buenos Aires-Argentina), [fecha de edición: 2010-12-16] [Consultado: 03 de Noviembre 2015]. Disponible en: <<http://es.slideshare.net/CristhianOrtiz/forma-farmaceutica-topica>>

53. **OCHOA, J. E, et al** 2015. "Estandarización preliminar de parámetros de calidad del extracto blando de las hojas de *Petiveria alliacea L*". *Revista cubana de Química* [en línea], 2015, (país) 18 (3), p 81. [Consultado: 03 de Noviembre 2015].ISSN 2224-5421. Disponible en: <<http://ojs.uo.edu.cu/index.php/cq/article/view/2136/1682>>.

54. **OROZCO, G. M.** "Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de Molle (*Schinus molle*), Cola de caballo (*Equisetum arvense L.*), Linaza (*Linum usitatissimum L.*) en ratones (*Mus musculus*)" (Tesis pregrado). Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia (Riobamba-Ecuador). 2013. p 75 [Consultado: 04 de Noviembre 2015]. Disponible en: <<http://www.scribd.com/doc/234357246/Bioquimico-Farmaceutico-pdf#scribd>>.

55. **ÖZGEN, U, et al.** "Folk medicines in the villages of Ilıca District (Erzurum, Turkey)". *Tübitak*. [en línea], 2012, (London) 36 (1), p 100 [Consultado: 06 de Noviembre 2015] ISSN

1009-1224. Disponible en: <  
[https://www.researchgate.net/publication/267709575\\_Folk\\_medicines\\_in\\_the\\_villages\\_of\\_Ilica\\_District\\_Erzurum\\_Turkey](https://www.researchgate.net/publication/267709575_Folk_medicines_in_the_villages_of_Ilica_District_Erzurum_Turkey)>.

56. **PIOLA, J. C.** "*Plantas que contienen oxalatos*" [En línea] Cordoba-Argentina, Soto Vallejo B, [fecha de edición: 2013-05-17] [Consultado: 11 de Octubre 2015]. Disponible en: <  
<http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=880>>

57. **POLUNIN, O.** "*Flores Sivistres de España y Europa, Barcelona*". [En línea] Barcelona-España, [fecha de edición: 1998-03-25] [Consultado: 11 de Octubre 2015]. Disponible en: <  
[http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex\\_crispus](http://es.wikipedia.org/wiki/Rumex_crispus)>

58. **PYE, A.** "*Ecological Studies of Rumex crispus L. Propagation, Competition and Demography*" (Tesis Doctoral) Universitatis agriculturæ Sueciæ Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Department of Crop Production Ecology Uppsala. Doctoral Thesis Swedish University of Agricultural Science. Uppsala, 2008 pp 9-12 [Consultado: 11 de Octubre 2015]. Disponible en: <  
[http://pub.epsilon.slu.se/1905/1/Thesis\\_Ecological\\_studies\\_of\\_Rumex\\_crispus\\_L\\_Alexandra\\_Pye.pdf](http://pub.epsilon.slu.se/1905/1/Thesis_Ecological_studies_of_Rumex_crispus_L_Alexandra_Pye.pdf)>.

59. **RADICE, M. & VIDARI, G.** "*Caracterización fitoquímica de la especie Ilex guayusa Loes. y elaboración de un prototipo de fitofármaco de interés comercial*" (Tesis pregrado). Università degli Studi di Pavia Italia. Universidad Politecnica Salesiana. Facultad de Ciencias. Escuela de Farmacia. Quito-Ecuador, 2007, p 10 [Consultado: 11 de Octubre 2015]. Disponible en: <  
<http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/8706/1/Caracterizacion%20fitoquimica%20de%20la%20especie%20Ilex%20guayusa%20Loes.pdf>>.

60. **REDROBÀN, K.** "*Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos del berro (Nartustium officinalis) y llantén (Plantago major) en ratones (Mus musculus)*". (Tesis pregrado). ESPOCH. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia.. (Riobamba-Ecuador), 2012.pp 30-32 [Consultado: 11 de Octubre 2015]. Disponible en: <  
<http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/8706>>.

61. **REIG R, S. P. B. C.,** 1990. "Fatal poisoning by *Rumex crispus* (curled dock): pathological findings and application of scanning electron microscopy" *Cabdirect* [En línea],

1990, (Venezuela) 3(5), [Consultado: 23 de Octubre 2015].ISSN 0145-6296. Disponible en: < <https://sites.google.com/a/georgetown.edu/urban-herbs/curled-dock> >.

62. **RESTREPO, M. J, et al.** 2011. "Medida de la cicatrización en úlceras por presión. ¿Con qué contamos?". *Scielo* [en línea],2011, (país) 22 (1), [Consultado: 13 de Octubre 2015].ISSN. 1134-928. Disponible en: < [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1134-928X2011000100006](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-928X2011000100006)>.

63. **RHODES, B.** "*Modern Pharmaceutics, química cinética y estabilidad de medicamentos*". [En línea] Cordoba-Argentina: Escoto Lilian, [Consultado:23 de Agosto 2015]. Disponible en: <<http://www.monografias.com/trabajos75/estabilidad-medicamentos/estabilidad-medicamentos2.shtml>>

64. **RIVERA, E. V,** 2002. "Fisiología de la Cicatrización". [En línea].Segunda ed, Guayas-Ecuador, 2002. [Consultado: 14 de Octubre 2015]. Disponible en: < [http://www.medicosecuador.com/librosecng/articulos/1/fisiologia\\_de\\_la\\_cicatricacion.>](http://www.medicosecuador.com/librosecng/articulos/1/fisiologia_de_la_cicatricacion.>)

65. **RODRÍGUEZ DE VERA, B, et al.** "Efectos farmacológicos y cicatrizantes de extracto de *Rumex Lunaria L*". *Canarias médica y quirúrgica*, vol 5, nº 13 (2007), (Canarias) pp. 33-35.

66. **ROMERO, C. O et al.** "Aceptación de los fitofármacos por médicos y pacientes en clínicas de atención primaria". *Revista Medica IMSS* [en línea], 2004, (Barcelona-España) 42 (2), p 127. [Consultado: 17 de Octubre 2015]. ISSN 1024-9764. Disponible en: < <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2004/im042f.pdf> >.

67. **SALEM, C, et al.** "Heridas conceptos generales" *Revista Cirugia* [en línea], 2000, (Valdivia) 14 (1), pp. 90-99. [Consultado: 18 de Septiembre 2015] ISSN. 0718-2864. Disponible en: < [http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?pid=S0718-28642000000100015&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?pid=S0718-28642000000100015&script=sci_arttext&tlng=es) >.

68. **TAJ, M, et al.** "In-vitro Antibacterial Study of Stem Extract of *Rumex dentatus* Against Different Bacterial Pathogenic Strains". *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci* [en línea], 2014, (Pakistan) 14 (3), p 200. [Consultado: 11 de Octubre 2015].ISSN 1818-6769. Disponible en: < [http://www.idosi.org/aejaes/jaes14\(3\)14/4.pdf](http://www.idosi.org/aejaes/jaes14(3)14/4.pdf) >.

69. **TALERO, C, et al.** "Calidad microbiológica de propóleo crudo y sólidos solubles de extractos de propóleos de *Apis mellifera* en Colombia". *Med.Vet.Zoot* [en línea], 2012, (Bogotá-Colombia) 59(2), p 115. [Consultado: 18 de Septiembre 2015]. ISSN 0120-2952. Disponible en: < <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407639231005> >.
70. **TEMAS DE FARMACOGNOSIA-PLANTAS MEDICINALES.** "*Temas de farmacognosia-Plantas medicinales*". [En línea] Chile,[Fecha de edición: 2006-04-23]. [Consultado: 10 de Noviembre 2015]. Disponible en: <<http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/productos-naturales/acedera/>>
71. **TOLOZA, Z. P, ET AL.** "Determinación de rutina y trigonelina en extractos de hojas de *Bauhinia forficata subsp. pruinosa* y evaluación del efecto hipoglicemiante en humanos" *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas* [en línea], 2015, (Chile) 14(1), pp 21-32. [Consultado: 13 de Noviembre 2015]. ISSN 0717-7917. Disponible en: < <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85632845003>>.
72. **TORRA, I. J, et al.** "Uso del colágeno en la cicatrización de las heridas".*Revista Española de Enfermería* [en línea], 2000, (Barcelona- España) 23(10), p 719. [Consultado:12 de Noviembre 2015]. ISSN 0210-5020. Disponible en: <<http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/65255>>.
73. **TORRES LEYVA, ET AL.** 2004. "Evaluación evolutiva de la función fagocítica de los polimorfonucleares".*Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia* [en línea], 2004, (Cuba) 20(2),[Consultado: 03 de Noviembre 2015].ISSN 1561-2996. Disponible en: < [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892004000200003](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000200003) >.
74. **TOSO, R. E, et al.** "Aislamiento, Identificación y Cuantificación de Compuestos con Actividad Gastroprotectora presentes en *Centaurea solstitialis*" *Pharm. Pharmacol.* [en línea], 2002 (Madrid-España) 2(16), p 18. [Consultado: 13 de Septiembre 2015].ISSN 1054 -1059. Disponible en: < <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/n04a03toso.pdf>>.
75. **V. SENTHIL, K, et al.** "Medicinal Plants with Potential Wound Healing Activity".*Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* [en línea], 2015, (India)7(2), pp. 116-123. [Consultado: 04 de Noviembre 2015] ISSN 0975-2331. Disponible en: <<http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:rjpp&volume=7&issue=2&article=009>>.

76. **VALVERDE, M. E. & GEMAL, A.** "A produção de fitomedicamentos e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos" *Tecnologia Farmacêutica - Artigo de Pesquisa. Rev. Brasil. Farm.* [en línea], 2009, (Brasil) 4(90), p 291. [Consultado: 23 de Septiembre 2015]. ISSN 190/498. Disponible en: <  
[http://www.rbfarma.org.br/files/pag\\_290a297\\_producao\\_fitomedicamentos\\_190\\_90-4.pdf](http://www.rbfarma.org.br/files/pag_290a297_producao_fitomedicamentos_190_90-4.pdf)>.
77. **VÀZQUEZ, A. & ALVAREZ, P. E.** "Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo" *Tecnociencia* [En línea], 2012, (Chihuahua-Mexico) 6(2), [Consultado: 24 de Septiembre 2015].ISSN 032-300. Disponible en: <  
[http://tecnociencia.uach.mx/numeros/v6n2/data/Taninos\\_hidrolizables\\_y\\_condensados\\_naturaleza\\_quimicaventajas\\_y\\_desventajas\\_de\\_su\\_consumo.pdf](http://tecnociencia.uach.mx/numeros/v6n2/data/Taninos_hidrolizables_y_condensados_naturaleza_quimicaventajas_y_desventajas_de_su_consumo.pdf)>
78. **VELANDIA, P. D.** "*Evaluación de la actividad cicatrizante y caracterización fitoquímica de *Dracotium croatti**". (Tesis) (Maestria) Universidad Nacional De Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. (Bogotá D.C-Colombia), 2009, [Consultado: 25 de Septiembre 2015]. Disponible en: <  
<http://www.bdigital.unal.edu.co/8469/1/192529.2009.pdf> >.
79. **VILA, R. & CAÑIGUERAL, F. S.** "La Fitoterapia como herramienta terapéutica" *Revista Dialnet* [en línea], 2005, (Madrid-España) 6(1), pp.43-51. [Consultado: 27 de Septiembre 2015].ISSN. 1695-3827 Disponible en: <  
<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1224412> >.
80. **WAGNER, H, et al** 1984. "*Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer-Verlag*".[en linea]. Segunda ed. Berlin Heidelberg, 1984. [Consultado: 14 de Septiembre 2015]. Disponible en: <  
[https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=8y2B\\_61iOhIC&oi=fnd&pg=PA3&dq=Plant+Drug+Analysis.+A+Thin+Layer+Chromatography+Atlas.+Springer-Verlag&ots=xUZ6Cd8jBj&sig=yc1x2S84H0Qgms5e8PBea0YN2TY#v=onepage&q=Plant%20Drug%20Analysis.%20A%20Thin%20Layer%20Chromatography%20Atlas.%20Springer-Verlag&f=false](https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=8y2B_61iOhIC&oi=fnd&pg=PA3&dq=Plant+Drug+Analysis.+A+Thin+Layer+Chromatography+Atlas.+Springer-Verlag&ots=xUZ6Cd8jBj&sig=yc1x2S84H0Qgms5e8PBea0YN2TY#v=onepage&q=Plant%20Drug%20Analysis.%20A%20Thin%20Layer%20Chromatography%20Atlas.%20Springer-Verlag&f=false)>.
81. **YILDIRIM, A, et al.** "Determination of Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Rumex crispus L* Extracts" *.Journal of agricultural and food chemistry* [en línea], 2001, (Turkia) 48(8), p 4085. [Consulta: 12 de Octubre 2015].ISSN 0103572. Disponible en: <  
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0103572> >

## ANEXOS

### Anexo A : Obtención de la especie *Rumex crispus*



Fotografía a



Fotografía b

**Fotografías N°A1** a) especie Lengua de vaca y b) lugar de recolección.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

### Anexo B : Procesamiento de las hojas de *Rumex crispus*.



Fotografía a



Fotografía b

**Fotografía N° B1** a) molino utilizado para la trituración, b) obtención de la materia vegetal triturada

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

**Anexo C : Control de calidad de la droga cruda.**



Fotografia a



Fotografia b



Fotografia c



Fotografia d





Fotografía e



Fotografía f



Fotografía g



Fotografía h

**Fotografía N° C1** a), b) procedimiento para humedad, c), d) procedimiento para obtener cenizas totales, e), f) procedimiento para cenizas solubles en ácido clorhídrico y g), h) procedimiento para cenizas insolubles en agua

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015



**Anexo D : Control de calidad del extracto**



Fotografía a



Fotografía b

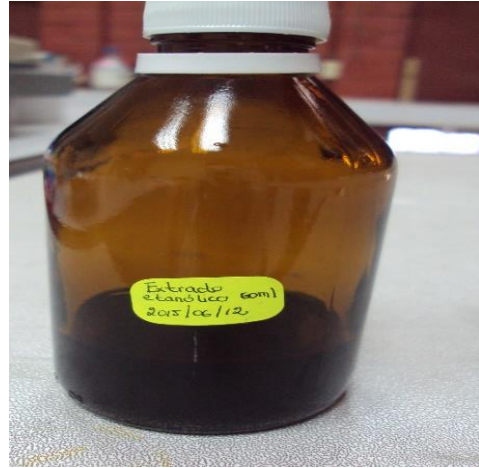
**Fotografía N° D1** a) Procedimiento para obtener el extracto etéreo, b) densidad realizada del extracto de *Rumex crispus*

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

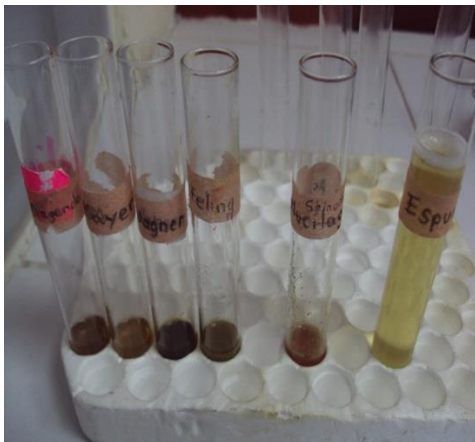
**Anexo E** : Procedimiento para hallar la presencia cualitativa de metabolitos secundarios en el extracto de hojas de *Rumex crispus*.



Fotografia a



Fotografia b



Fotografia c

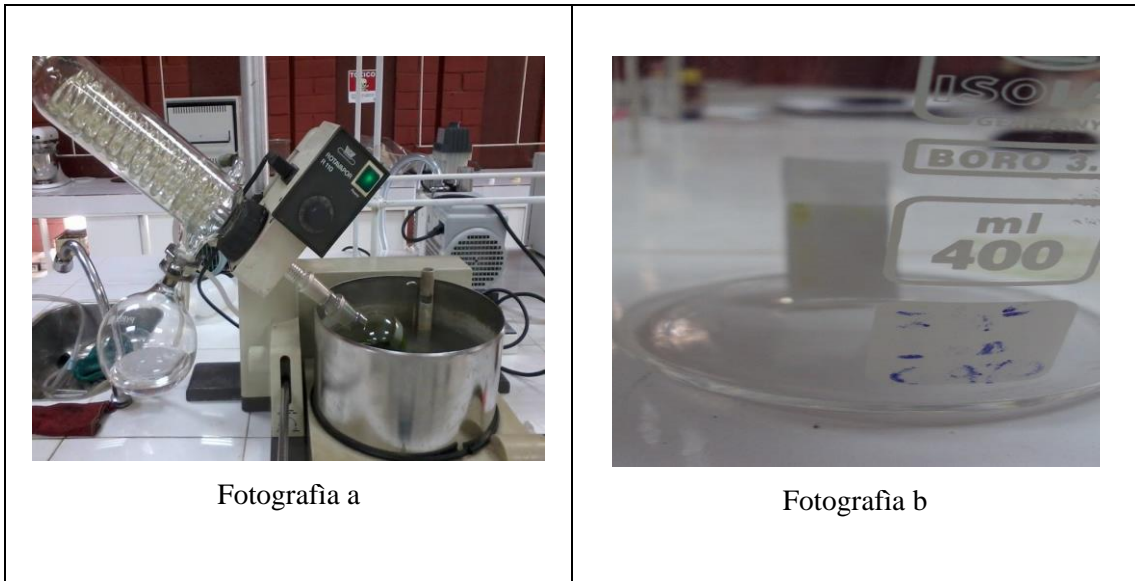


Fotografia d

**Fotografia N° E1** a) Filtración del extracto, b) conservación del extracto, c) tamizaje fitoquímico, d) reacción de shinoda y felhing positivas.

Realizado por: Andrea Barreno H, 2015

**Anexo F :** Procedimiento para la realización de cromatografía en capa fina del extracto de hojas de *Rumex crispus*



**Fotografía N° F1:** a) Concentración del extracto, b) corrido de la placa en un sistema de solvente.

**Realizado por:** Andrea Barreno,H 2015

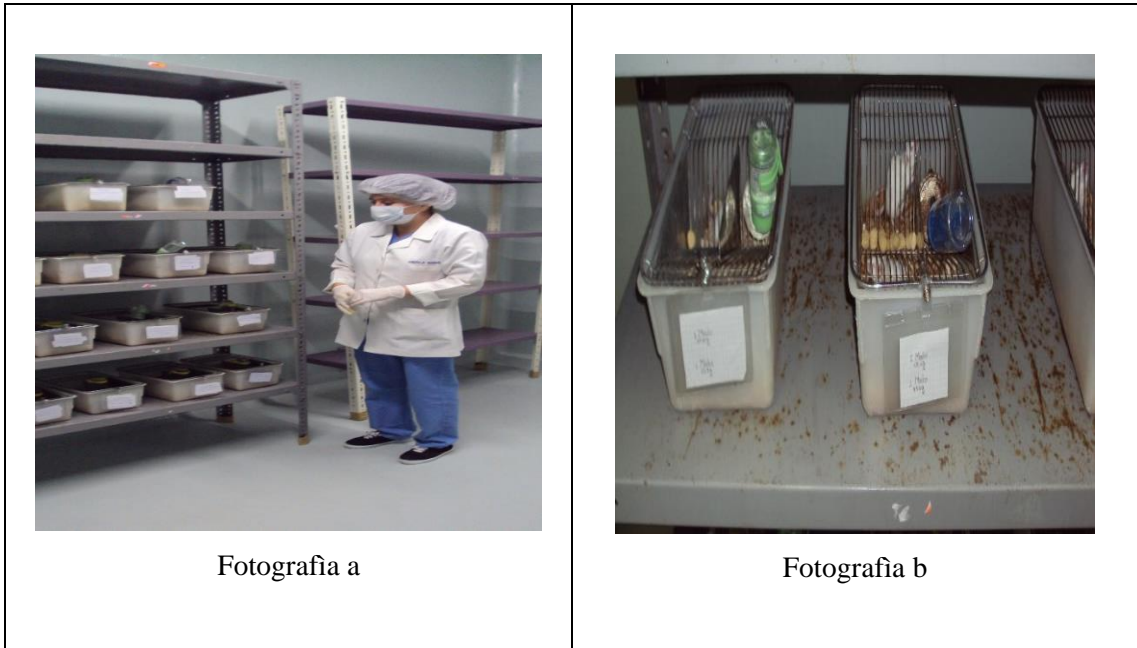
**Anexo G :** Cuantificación de metabolitos secundarios del extracto de hojas de *Rumex crispus* por espectrofotometría UV.



**Fotografía N° G1:** a) procedimiento para la cuantificación de fenoles totales, b) realización de la cuantificación de flavonoides.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

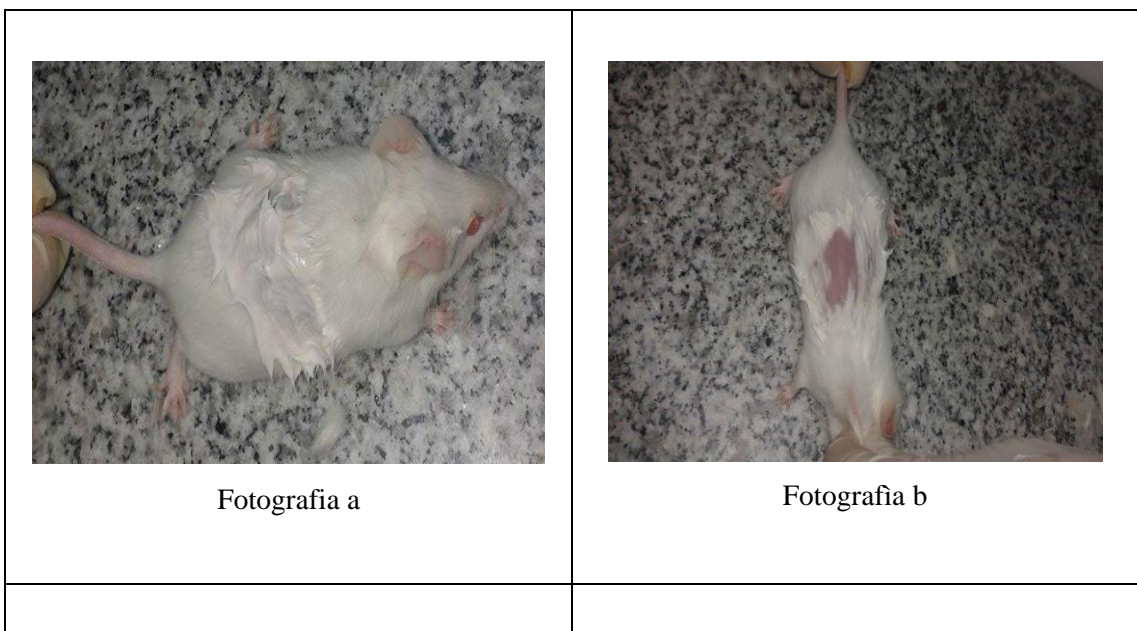
**Anexo H :** Ambientación de los ratones (*Mus musculus*) antes de la aplicación de los tratamientos.



**Fotografía N° H1:** a) control de temperatura y humedad relativa, b) alimentación de acuerdo al peso del animal.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

**Anexo I :** Procedimiento para la inducción de la herida en los ratones



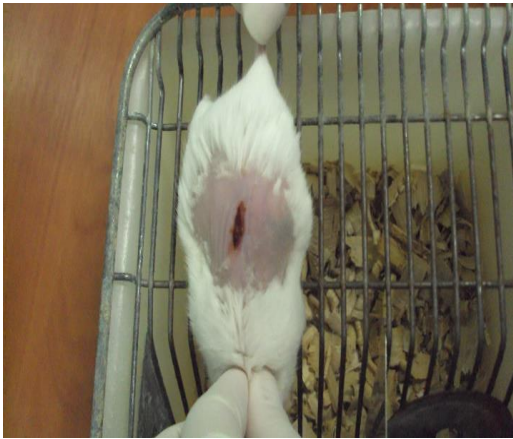




Fotografía c



Fotografía d



Fotografía e

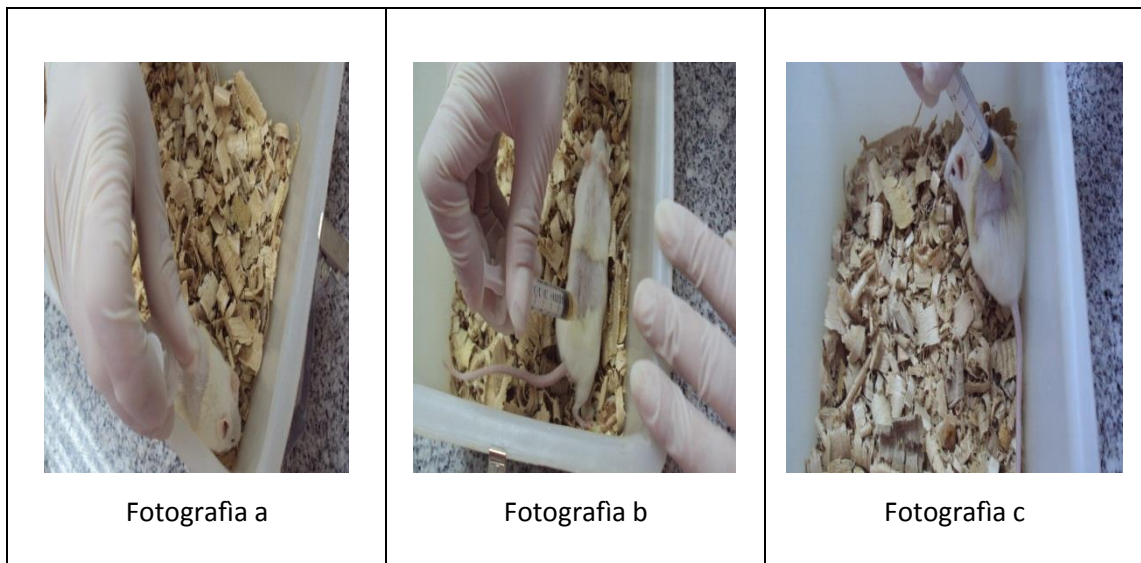


Fotografía f

**Fotografía N° II:** a) aplicaci3n de la crema depilatoria Veet, b) resultado despues de 5 minutos de la aplicaci3n de la crema depilatoria, c) anestesico utilizado por via t3pica en el dorso del rat3n, d) inducci3n de la herida con bisturi, e) obtenci3n de la herida de 2cm, Protocolo terap3utico usado.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

**Anexo J :** Aplicacion de los extractos de hojas de *Rumex crispus* sobre la herida.

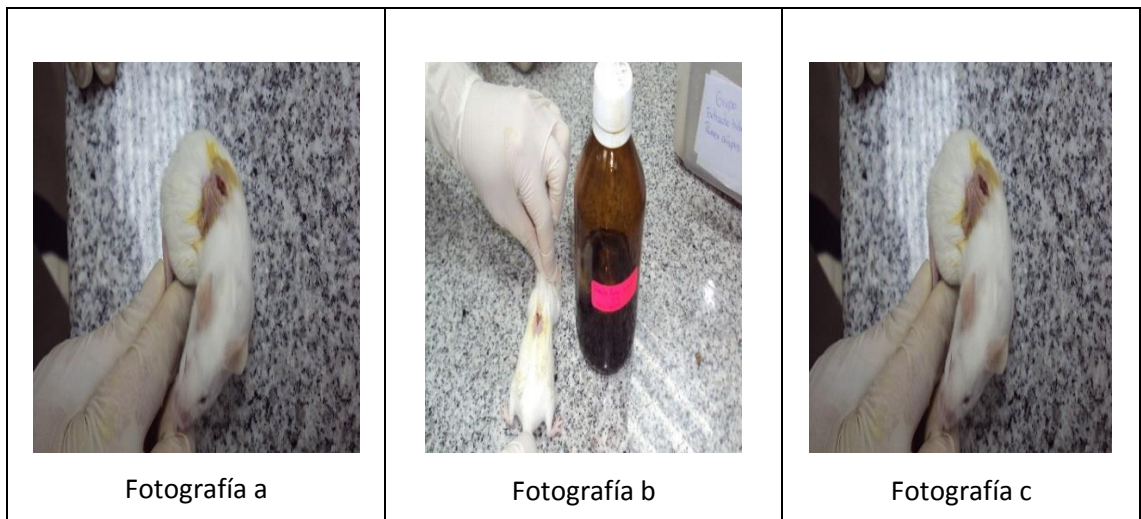


**Fotografía N° J1:**

a) aplicaciòn de 0,1 ml de extracto al 25%, b) aplicaciòn de 0,1 ml de extracto al 50%, c) aplicaciòn de 0,1 ml de extracto a 75%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

**Anexo K :** Primera aplicaciòn de los extracto de hojas de *Rumex crispus* en las heridas inducidas.

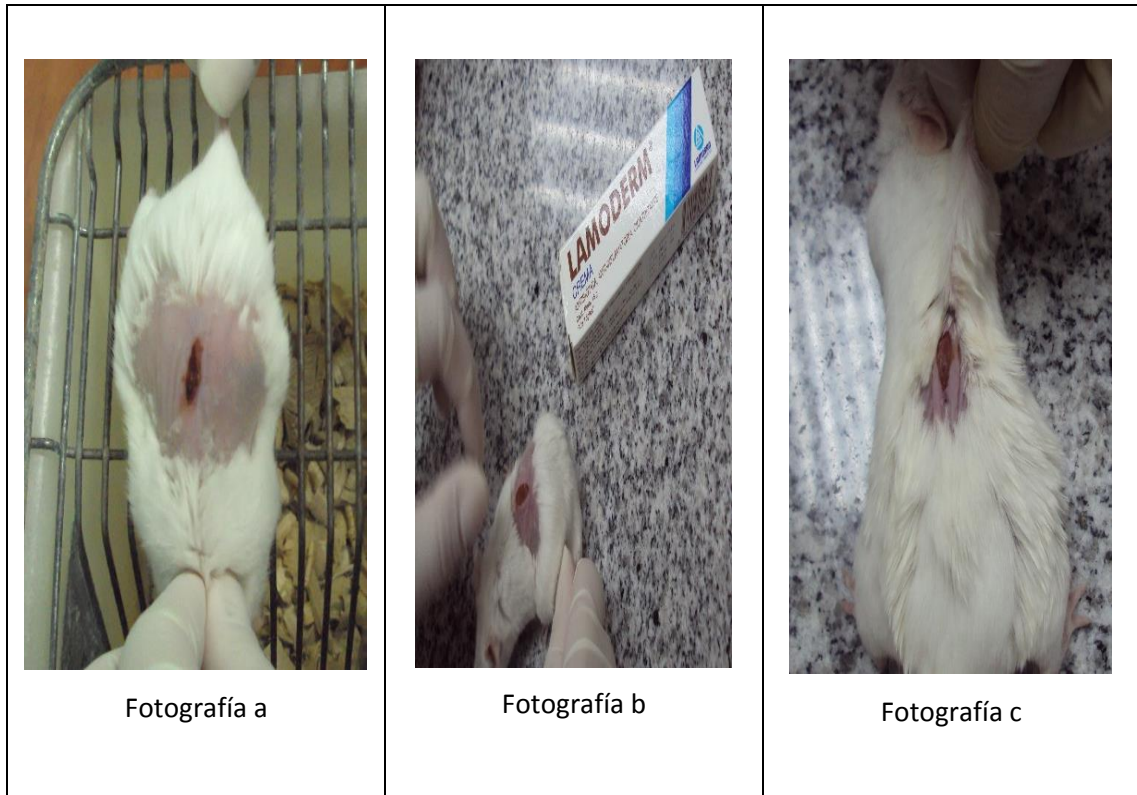


**Fotografía N° K1:**

a) Tratamiento con extracto de hojas de *Rumex crispus* al 25%, b) extracto de hojas de *Rumex crispus* al 50%, c) extracto de hojas de *Rumex crispus* al 75%

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

**Anexo L :** Primer día de tratamiento con los controles utilizados de acuerdo con el protocolo farmacológico.



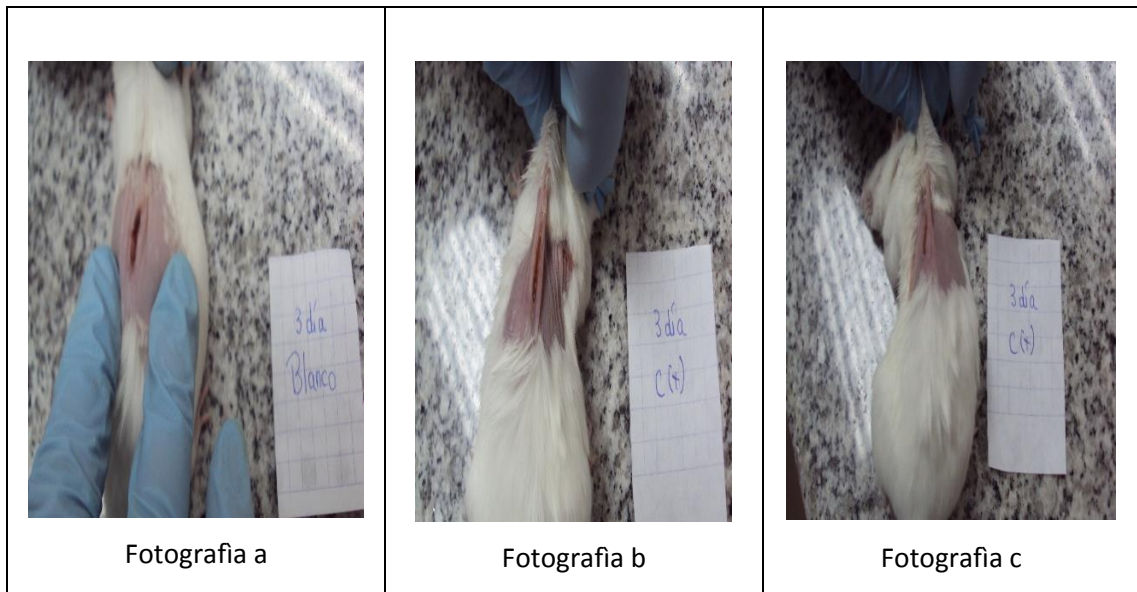
**Fotografía N° L1:**

a) Blanco sin fármaco, b) aplicación de sulfato de neomicina + acetato de prednisolona, c) finalmente alcohol al 40%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.



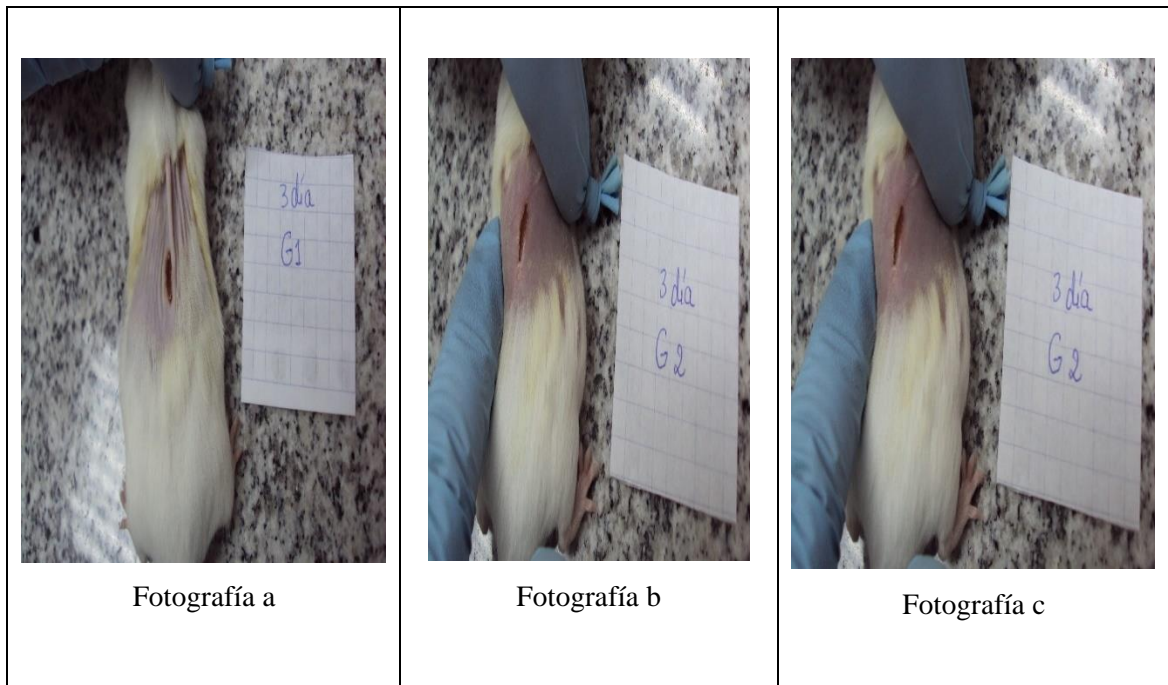
**Anexo M :** Tercer día de tratamiento cicatrización con los controles usados de acuerdo con el protocolo farmacológico usado.



**Fotografía N° M1:** a) sin tratamiento, b) sulfato de neomicina + acetato de prednisolona, c) alcohol al 40%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

**Anexo N :** Tercer día de tratamiento cicatrización con el extractos de hojas de *Rumex crispus*

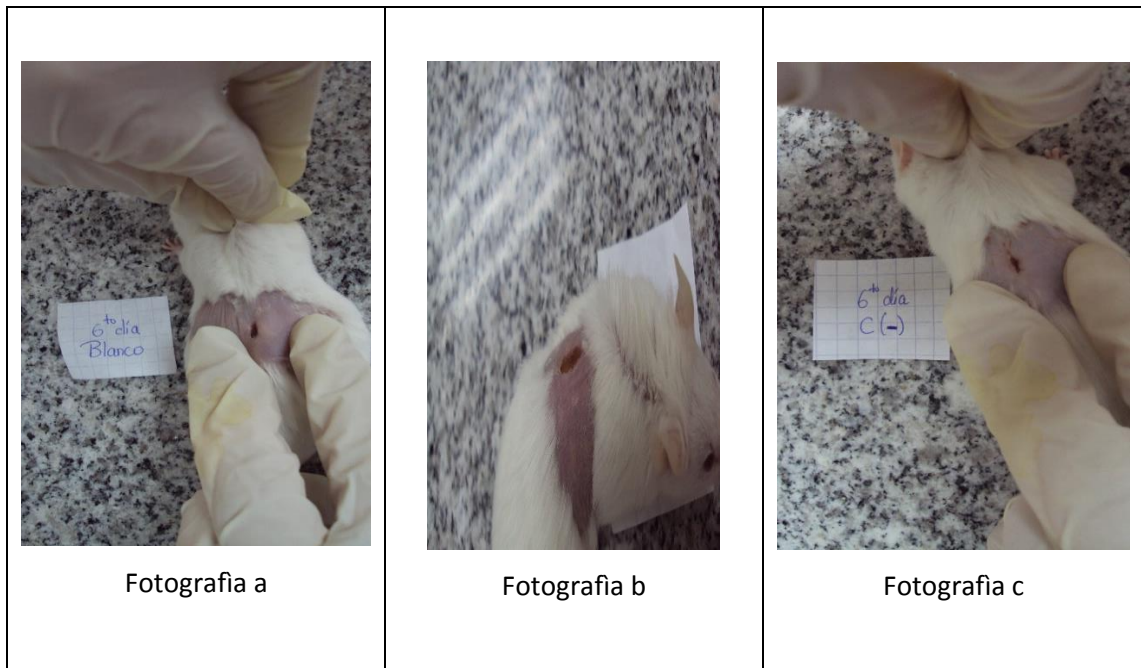


**Fotografía N° N1:** a) Extracto a 25%, b) extracto al 50%, c) extracto al 75%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.



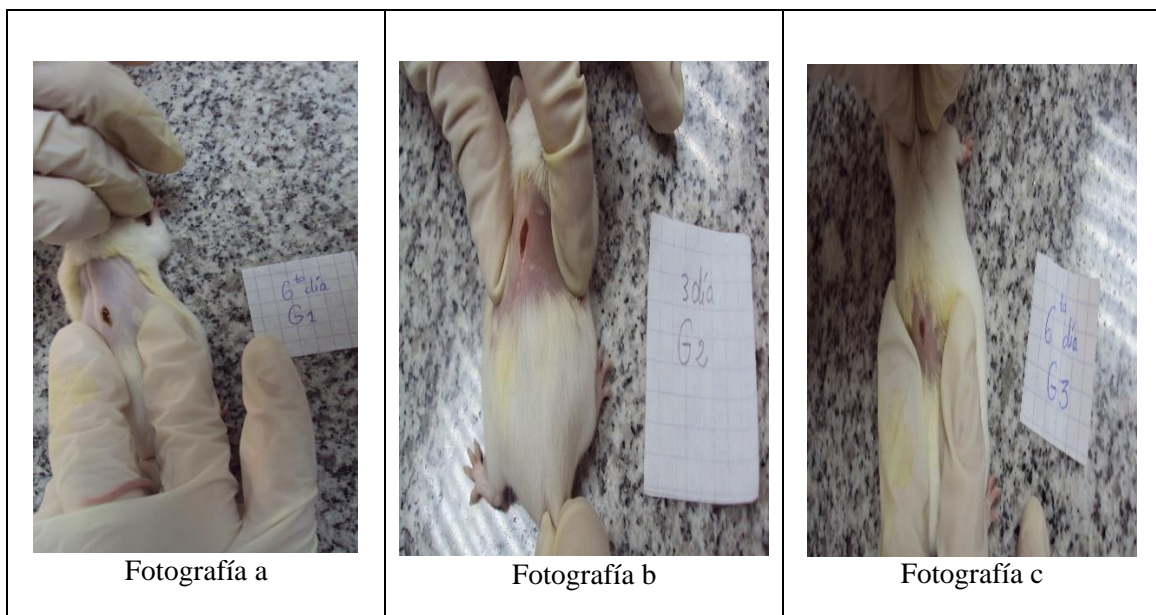
**Anexo O :** Sexto día de tratamiento, cicatrización con los controles utilizados de acuerdo al protocolo farmacológico usado.



**Fotografía N° O1:** a) sin tratamiento, b) sulfato de neomicina + acetato de prednisolona, c) alcohol al 40%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

**Anexo P :** Sexto día de tratamiento, cicatrización con las diferentes concentraciones del extracto de hojas de *Rumex crispus*.



**Fotografía N° P1:** a) extracto al 25%, b) extracto al 50%, c) extracto al 75%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

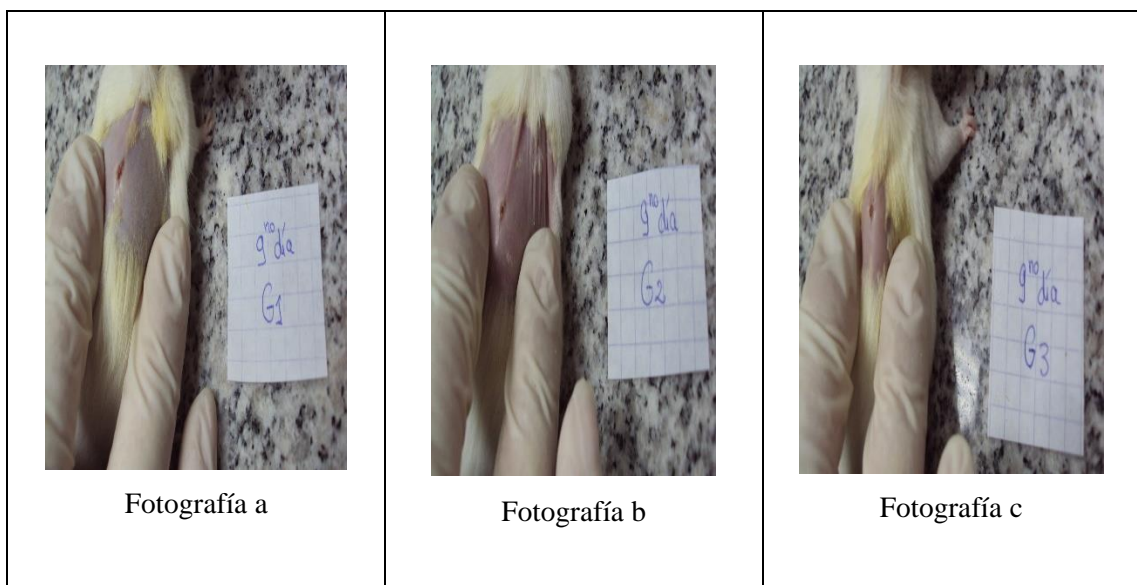
**Anexo Q :** Noveno día de tratamiento, cicatrización con los controles usados de acuerdo al protocolo farmacológico.



**Fotografía N° Q1:** a) sin tratamiento, b) sulfato de neomicina + acetato de prednisolona, c) alcohol al 40%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

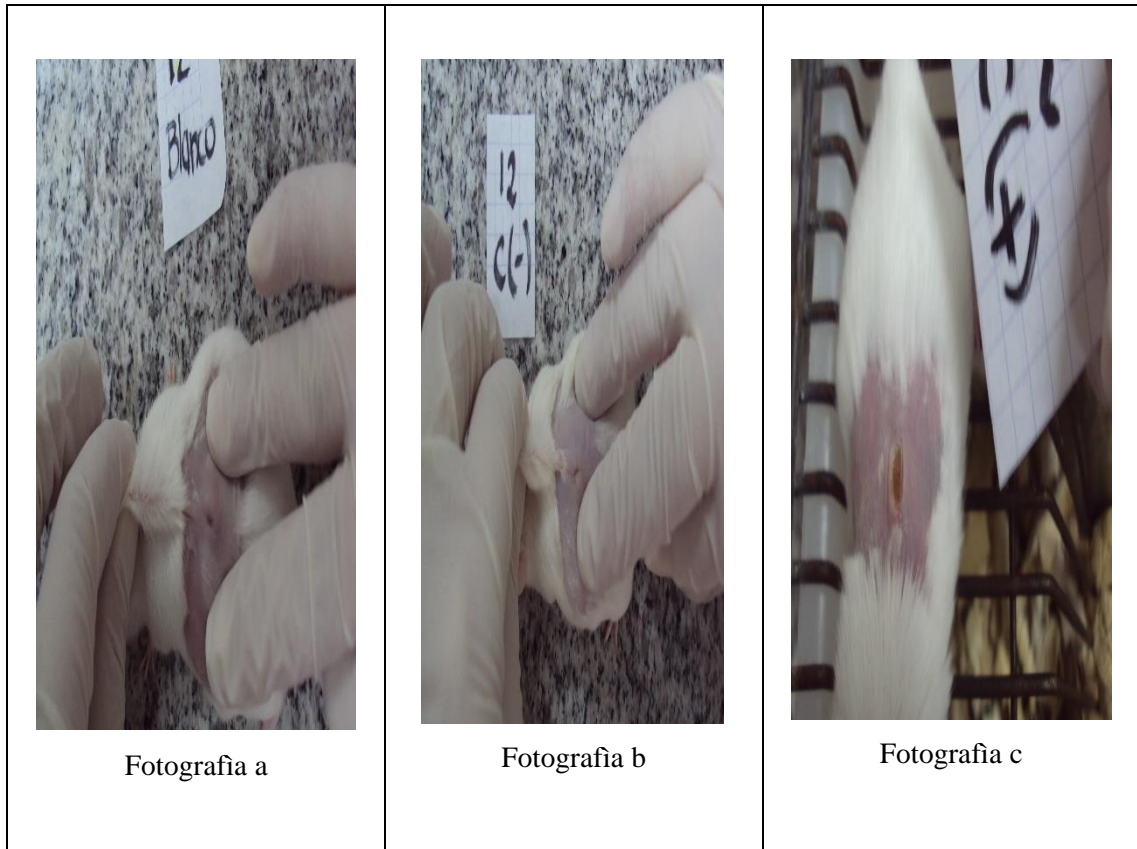
**Anexo R :** Noveno día de tratamiento, cicatrización con las diferente concentraciones del extracto de hojas de *Rumex crispus*



**Fotografía N° R1:** a) Cicatrización con extracto al 25%, b) cicatrización con extracto 50%, c) cicatrización con extracto a 75%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

**Anexo S :** Doceavo día de tratamiento, cicatrización con los controles usados de acuerdo al protocolo farmacológico.



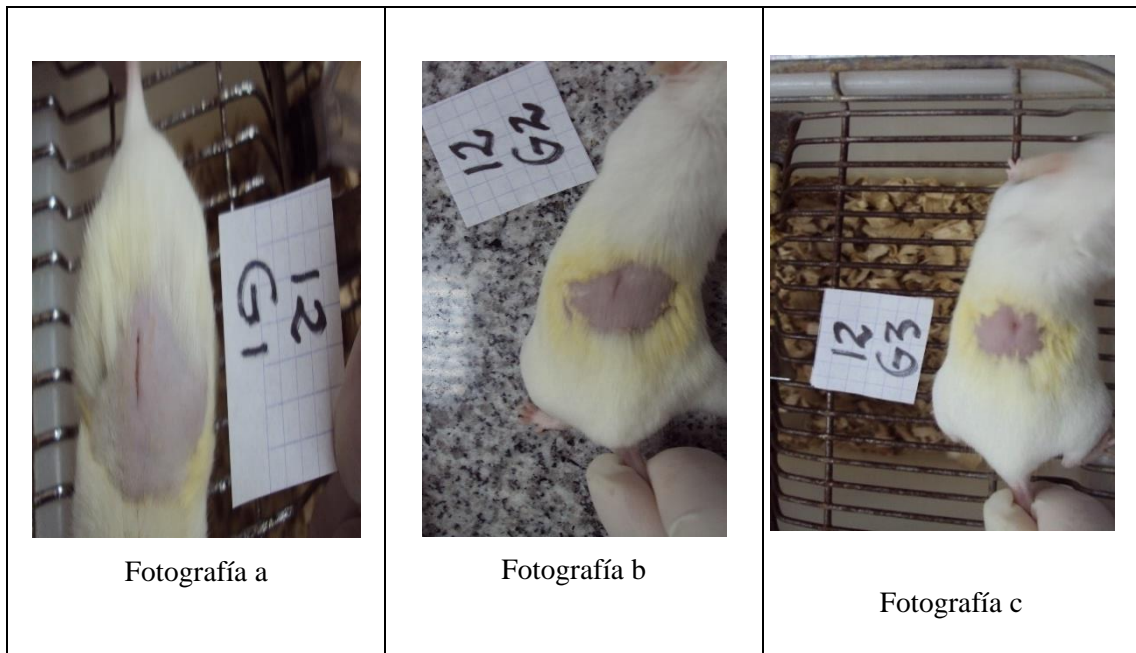
**Fotografía N° S1:**

a) cicatrización sin tratamiento, b) cicatrización con sulfato de neomicina + acetato de prednisolona, c) cicatrización con alcohol al 40%, respectivamente.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.



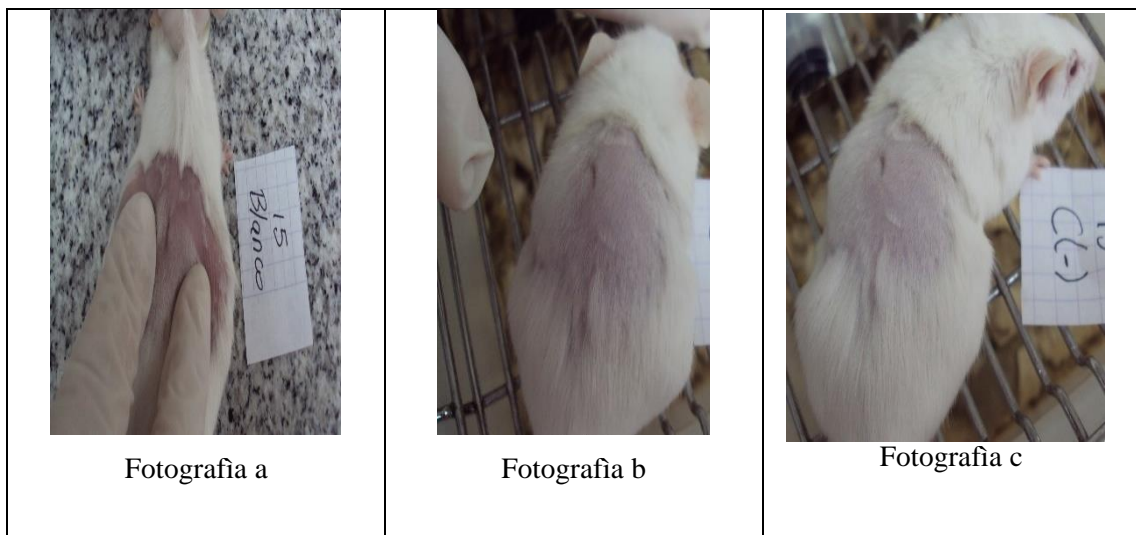
**Anexo T :** Doceavo día de tratamiento, cicatrización con las diferentes concentraciones del extracto de hojas de *Rumex crispus*



**Fotografía N° T1:** a) Cicatrización con el extracto a 25%, b) cicatrización con el extracto a 50%, c) cicatrización con el extracto a 75%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

**Anexo U :** Día quince de tratamiento, cicatrización con los controles usados de acuerdo al protocolo farmacológico.



**Fotografía N° U1:** a) cicatrización sin tratamiento, b) cicatrización con la aplicación de sulfato de neomicina + acetato de prednisolona, c) cicatrización con alcohol al 40%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

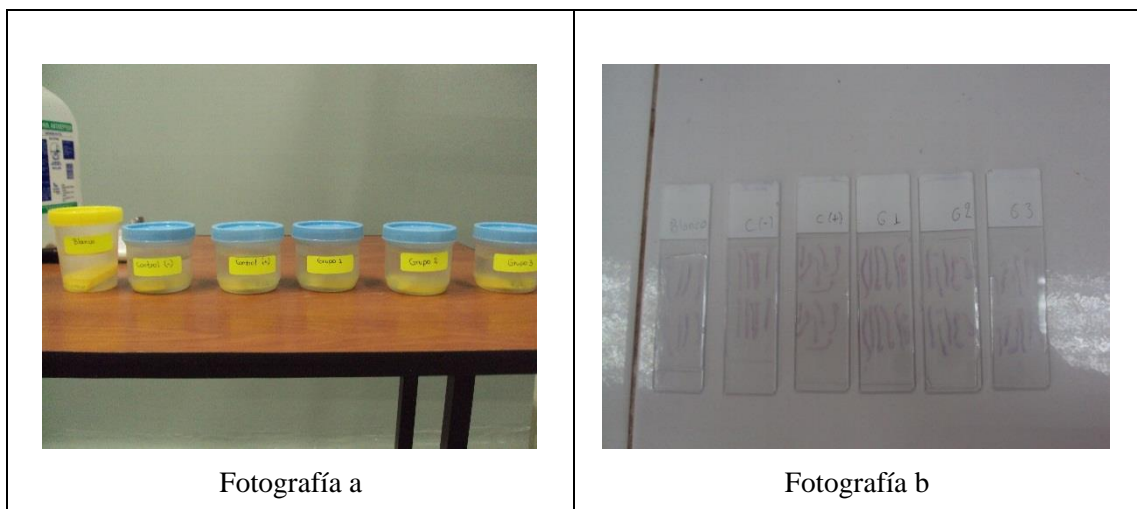
**Anexo V :** Cicatrización al día quince con la diferentes concentraciones del extracto de hojas de *Rumex crispus*.



**Fotografía N° V1:** a) Cicatrización con extracto al 25%, b) cicatrización con extracto al 50%, c) cicatrización con extracto al 75%.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

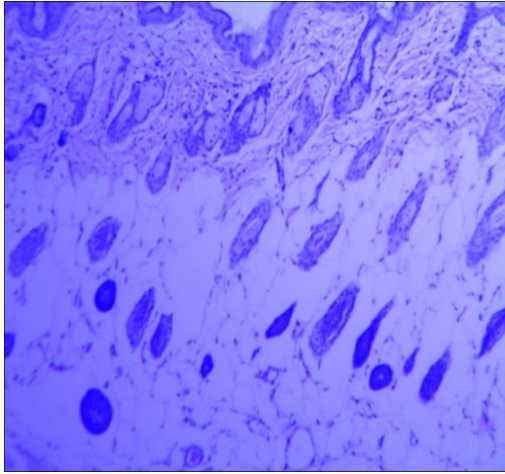
**Anexo W :** Cortes histológicos realizados del lugar de cicatrización de la herida del dorso de los ratones.



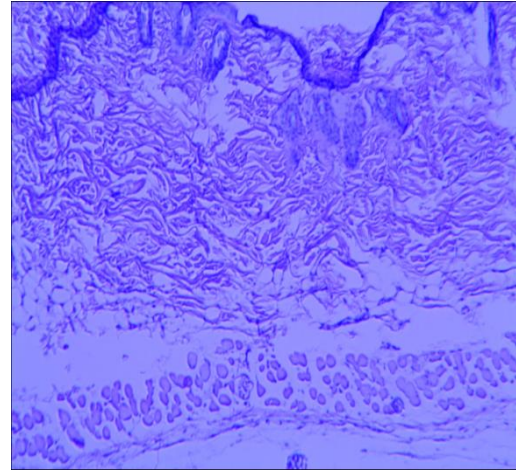
**Fotografía N° W1:** a) Conservación de los cortes en formol al 10%, b) obtención de las placas.

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015.

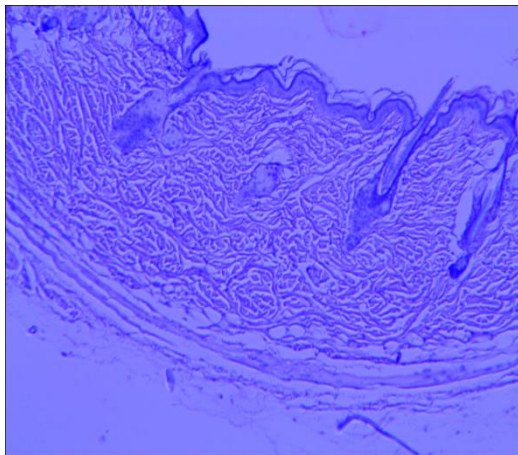
**Anexo X** : Analisis histopatológico de los cortes realizados de cada tratamiento usado en el analisis observado en un microscopio con lente de 10X.



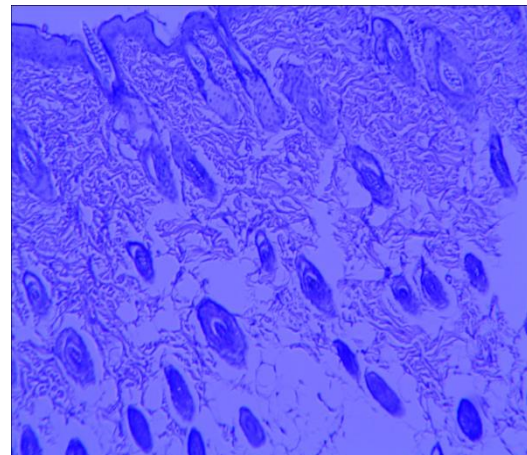
Fotografía a



Fotografía b

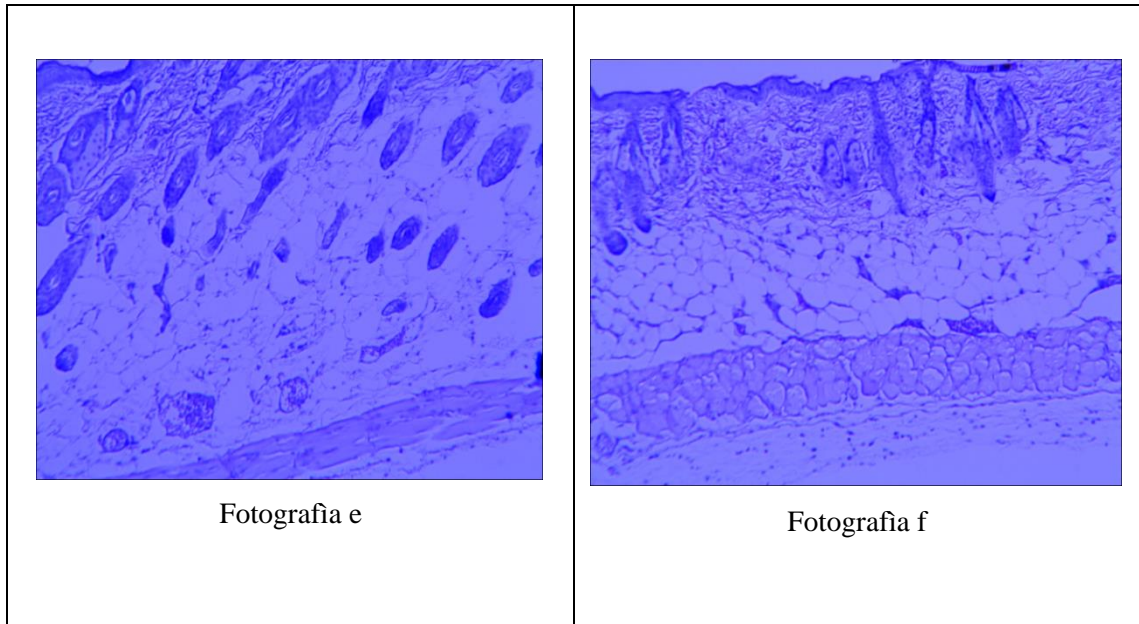


Fotografía c



Fotografía d

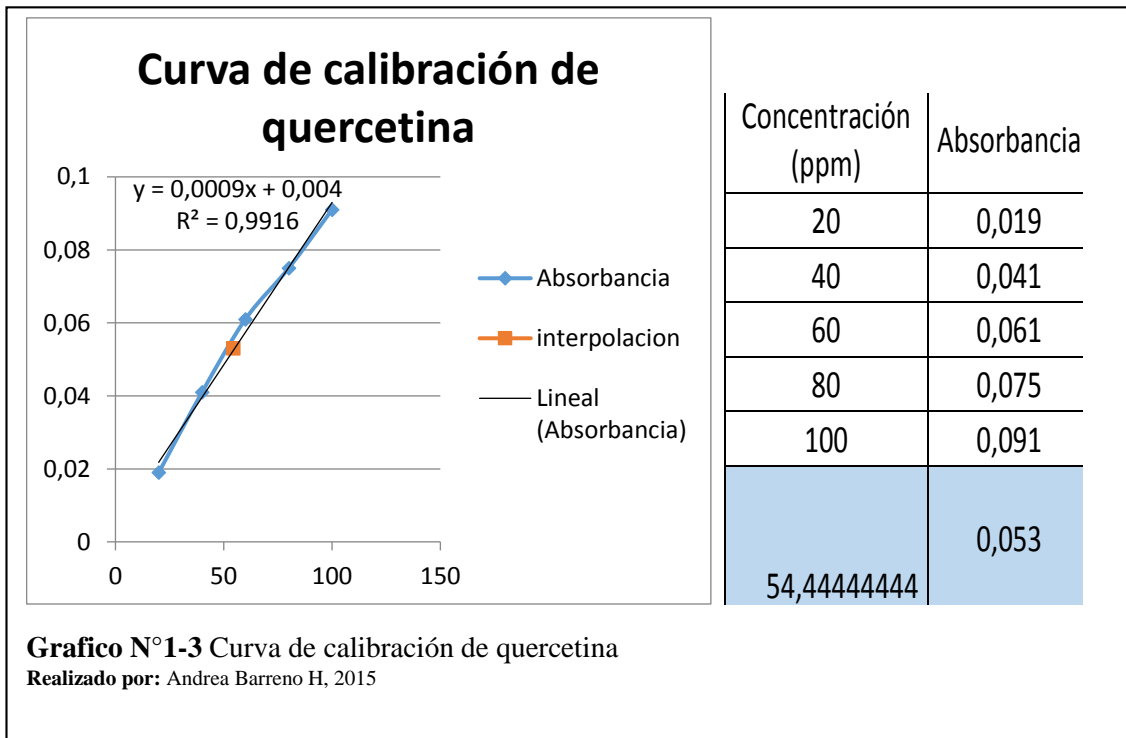




**Fotografía N° X1:** a) análisis histopatológico del blanco que no se le aplicò tratamiento, b) Análisis histopatológico del Control (+) alcohol al 40%, c) Análisis histopatológico del Control (+) Sulfato de neomicina + Acetato de prednisolona, d) G1 extracto de hojas de *Rumex crispus* a 25%, e) G2 extracto de hojas de *Rumex crispus* a 50%, f) Análisis histopatológico del tratamiento G2 extracto de hojas de *Rumex crispus* a 75%

**Realizado por:** Andrea Barreno H, 2015

**Anexo Y :** Curva de calibración de la quercetina con interpolación del dato obtenido del extracto de *Rumex crispus*



**Anexo Z :** Curva de calibración del ácido gálico con interpolación del dato obtenido del extracto de hojas de *Rumex crispus*

