



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“COMPARACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE TINTURAS  
ELABORADAS A BASE DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*) Y SANGRE DE  
DRAGO (*Croton lechleri*) APLICADOS EN RATONES (*Mus musculus*)”**

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO**

**PRESENTADO POR**

**NANCY PAMELA ALLAICA TENESACA**

**TUTOR:**

**Dra. SUSANA ABDO**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2015**



## DEDICATORIA

*Dedico este trabajo de investigación primero a Dios, pues él ha sido el motor principal en todo el proceso de elaboración y también me ha permitido culminar una etapa de mi vida. A mis padres y hermanos que con su apoyo incondicional me han fortalecido para ver un sueño hecho realidad. A mis amigos por brindar una sincera amistad.*

## AGRADECIMIENTO

*Sobre todas las cosas agradezco a Dios, por estar conmigo en cada paso de mi vida fortaleciendo mi corazón y brindándome sabiduría.*

*A todos mis amigos que con su compañía durante todo el periodo de estudio me han apoyado para lograr un sueño, compartiendo conocimientos.*

*A mis padres por el apoyo incondicional tanto emocional y económico que me dieron a lo largo de la carrera, a mis hermanos quienes han compartido mis alegrías y tristezas, a la Doctora Susana Abdo por su asesoría y dirección en el trabajo de investigación, al Dr. Carlos Espinoza que a más de ser unos distinguidos docentes fueron mis amigos en este trabajo de investigación.*

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

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**COMPARACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE TINTURAS ELABORADAS A BASE DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*) Y SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) APLICADOS EN RATONES (*Mus musculus*)**” de responsabilidad del señorita egresado Nancy Pamela Allaica Tenesaca, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Nancy Veloz <b>DECANA</b>	-----	-----
Dra. Ana Albuja <b>DIRECTORA DE ESCUELA</b>	-----	-----
Dra. Susana Abdo <b>DIRECTOR DE TESIS</b>	-----	-----
Dr. Carlos Espinoza <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	-----	-----
Dra. Elizabeth Escudero <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	-----	-----
<b>COORDINADOR SISBIB ESPOCH</b>	-----	-----
<b>NOTA DE TESIS</b>	-----	

Yo, **Nancy Pamela Allaica Tenesaca**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados, expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de la tesis de grado pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

---

NANCY PAMELA ALLAICA TENESACA

## RESUMEN

Se realizó la comparación del efecto cicatrizante de tinturas elaboradas a base de guarango (*Caesalpinia spinosa* Molina Kuntze) y sangre de drago (*Croton lechleri* Muell.-Arg) aplicados en ratones (*Mus musculus*), en el Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Mediante el método de maceración se obtuvieron las tinturas de dos plantas, sobre las que se realizó el control de calidad de materia prima y de tinturas. Se experimentó en 8 grupos de ratones, usando: G (guarango (*Caesalpinia spinosa*) al 100%), SD (sangre de drago (*Croton lechleri*) al 100%), G1.SD1. (Guarango (*Caesalpinia spinosa*) y Sangre de Drago (*Croton lechleri*) 50%:50%) y G2.SD2. (Sangre de Drago (*Croton lechleri*) y Guarango (*Caesalpinia spinosa*) 70%:30%) respectivamente y como grupos controles: B (blanco), N (control negativo), C (control positivo con crema Lamoderm), E (control positivo con Eterol), administrados por vía tópica 100µL de tinturas una vez al día en las heridas, y posteriormente se realizó el análisis histopatológico. En el control de calidad de materia prima y tinturas los datos obtenidos se encuentran dentro de los valores de referencia de la Real Farmacopea Española 3<sup>ra</sup> Edición y la Norma Ecuatoriana Fitoterápicos (2006). En el análisis del Tamizaje Fitoquímico se mostró saponinas, flavonoides, taninos con alta evidencia. Con respecto a la actividad cicatrizante se concluye, que es más eficaz el tratamiento de SD1.G1. que cicatrizó en 10 días, seguido por la tintura de G que duró 11 días, SD2.G2 13 días, SD14 días, C15 días, E.18 días y finalmente el control negativo 22 días, mientras que en el análisis histopatológico el tejido cicatricial de todos los controles positivos y tratamientos se regeneraron al 100% y el del control negativo al 60%. Se recomienda realizar un producto comercial utilizando estas tinturas para uso veterinario.

## SUMMARY

It was the comparison of the healing effect of dyes, elaborate with guarango (*Caesalpinia spinosa* Molina Kuntze) and Drago's blood (*Croton lechleri* Muell - arg) applied in mice (*Mus musculus*), in the vivarium of the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Tinctures of two plants, which was the control of quality of raw materials and dyes, were obtained by maceration method. We did the experiment in 8 groups of mice, using: G (Guarango (*Caesalpinia spinosa*) 100%), SD (Dragon's blood (*Croton lechleri*) 100%), G1.SD1. (Guarango (*Caesalpinia spinosa*) and Sangre de Drago (*Croton lechleri*) 50 percent: 50%) and G2.SD2. (Sangre de Drago (*Croton lechleri*) and Guarango (*Caesalpinia spinosa*) 70%:30%) respectively and as group of controls: B (white), N (negative control), C (positive control with cream Lamoderm), E (positive control with Eterol), topically – administered 100µL of dyes once a day in the wounds, subsequently histopathological analysis was performed. In the quality control of raw materials and dyes the data obtained are within the reference values of the phytochemical screening were saponins, flavonoids, tannins with high evidence. With respect to the healing activity is concluded, that the most effective treatment is that of SD1.G1. It healed in 10 days, in the Histopathological Analysis scartissue from all positive control and treatments has been reconstructed to 100% find negative control to 60%. We recommend a commercial product using these dyes for veterinary use.



## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AOAC	Association of Official Analytical Chemist
A	Área
°C	Grados centígrados
g	Gramos
H	Hora
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
INNE	Instituto Nacional de Nutrición Ecuatoriana
Kg	Kilogramo
L	Litro
Ms	Masa seca
min	Minutos
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
NTE	Norma Técnica Ecuatoriana
%	porcentaje
Pa	Peso de masa en gramos
Pb	Peso de bandeja en gramos
pH	Potencial de Hidrógeno
p	Promedio
t	Tiempo
TLC	Cromatografía de capa delgada o fina
UPC	Unidades propagadoras de colonias
$\sigma$	Varianza

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	vii
SUMMARY.....	viii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	ix
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
ÍNDICE DE CUADROS.....	xvi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xvii
INDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	xviii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xx
ÍNDICE DE TABLAS.....	xxi
INTRODUCCIÓN.....	xxii
<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
1.0 <b>FITOTERAPIA.....</b>	<b>1</b>
1.1 <b>Concepto.....</b>	<b>2</b>
1.1.2 <i>Carácter de la fitoterapia.....</i>	<b>3</b>
1.2. <b>Fitomedicamentos.....</b>	<b>4</b>
1.2.1 <i>Fitofarmacéuticos.....</i>	<b>4</b>
1.3. <b>Heridas.....</b>	<b>5</b>
1.3.1. <i>Clasificación de heridas.....</i>	<b>5</b>
1.3.2. <i>Cicatrización.....</i>	<b>5</b>
1.3.2.1. <i>Fitoterapia de la cicatrización.....</i>	<b>6</b>
1.3.2.2. <i>Tipos de cicatrización.....</i>	<b>6</b>
1.3.2.3. <i>Mecanismos relacionados con la cicatrización de heridas.....</i>	<b>9</b>
1.3.2.4. <i>Fases de la cicatrización.....</i>	<b>9</b>
1.3.3. <b>Cicatrizantes químicos.....</b>	<b>11</b>
1.3.3.1. <i>Becaplermina.....</i>	<b>11</b>
1.3.3.2. <i>Blasto – estimulina pom 1%.....</i>	<b>12</b>
1.3.3.3 <i>Silverderma aerosol 1g/100mL.....</i>	<b>12</b>
1.3.4. <b>Cicatrizantes naturales.....</b>	<b>13</b>
1.4. <b>Vegetales utilizados.....</b>	<b>14</b>
1.4.1 <b>Sangre de drago (Croton lechleri).....</b>	<b>14</b>
1.4.1.1 <i>Taxonomía.....</i>	<b>15</b>
1.4.1.2 <i>Descripción botánica.....</i>	<b>15</b>
1.4.1.3 <i>Hábitat.....</i>	<b>15</b>
1.4.1.4 <i>Propiedades físicas del látex.....</i>	<b>16</b>

1.4.1.5	<i>Cultivo</i> .....	16
1.4.1.6	<i>Composición química</i> .....	16
1.4.1.7	<i>Propiedades terapéuticas</i> .....	17
1.4.1.7.1	<i>Actividad cicatrizante</i> .....	17
1.4.1.7.2	<i>Acción antiviral y antibacteriana</i> .....	17
1.4.1.7.3	<i>Actividad inmunomoduladora</i> .....	18
1.4.1.7.4	<i>Actividad de infecciones gástricas</i> .....	18
1.4.1.7.5	<i>Actividad analgésica y antiinflamatorio</i> .....	18
1.4.1.7.6	<i>Efectos adversos y/o tóxicos</i> .....	19
1.4.2	<b>Guarango (<i>Caesalpinia spinosa</i>)</b> .....	19
1.4.2.1	<i>Taxonomía</i> .....	19
1.4.2.2	<i>Descripción</i> .....	20
1.4.2.3	<i>Distribución geográfica</i> .....	20
1.4.2.4	<i>Composición química</i> .....	21
1.4.2.5	<i>Aprovechamiento integral de vainas</i> .....	22
1.4.3.	<b>Taninos</b> .....	23
1.4.4.	<b>Propiedades químicas</b> .....	23
1.4.5.	<b>Aplicaciones</b> .....	24
1.5.	<b>Animales de experimentación</b> .....	25
1.5.1	<b>Estandarización de los individuos</b> .....	27
	 <b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	 <b>28</b>
2	<b>APLICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	28
2.1.	<b>Lugar de investigación</b> .....	28
2.2	<b>Materiales, equipos y reactivos</b> .....	28
2.2.1	<b>Material vegetal</b> .....	28
2.2.2.	<b>Animales de experimentación</b> .....	29
2.2.2.1	<b>Ratones (<i>Mus musculus</i>)</b> .....	29
2.2.3.	<b>Material farmacológico</b> .....	29
2.2.4.	<b>Equipos</b> .....	30
2.2.5.	<b>Material de laboratorio</b> .....	30
2.2.6.	<b>Reactivos</b> .....	31

2.3.	<b>Factores de estudio</b> .....	31
2.4.	<b>Métodos físicos – químicos aplicados al análisis de drogas crudas. Parámetros de control de calidad</b> .....	32
2.4.1.	<i>Determinación de cenizas totales e insolubles en acido</i> .....	32
2.4.1.1	<i>Determinación de cenizas totales</i> .....	32
2.4.1.2.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i> .....	32
2.4.1.3.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i> .....	32
2.4.2.	<i>Determinación del contenido de humedad</i> .....	32
2.5.	<b>Elaboración de tinturas</b> .....	32
2.5.1	<i>Obtención de tinturas de sangre de drago (Croton lechleri) y Guarango (Caesalpinia spinosa)</i> .....	32
2.6	<b>Control de calidad de tinturas</b> .....	33
2.6.1.	<i>Determinación organoléptica de tintura</i> .....	34
2.6.2.	<i>Determinación de pH</i> .....	34
2.6.3	<i>Determinación de índice de refracción</i> .....	34
2.6.4.	<i>Determinación de la densidad relativa</i> .....	34
2.6.5.	<i>Determinación de sólidos totales</i> .....	34
2.6.6.	<i>Determinación del contenido de alcohol</i> .....	34
2.7.	<b>Tamizaje fitoquímico</b> .....	34
2.8.	<b>Cromatografía en capa fina (flavonoides - quercetina)</b> .....	35
2.9.	<b>Análisis microbiológico</b> .....	36
2.10.	<b>Evaluación de la actividad cicatrizante de las tinturas. Protocolo farmacológico de cicatrización: Heridas inducidas</b> .....	37
2.10.1.	<i>Aclimatación</i> .....	37
2.10.2.	<i>Definición de los grupos para evaluar la actividad cicatrizante</i> .....	37
2.10.3	<i>Preparación del experimento</i> .....	39
2.10.4.	<i>Periodo de investigación</i> .....	39
2.10.5.	<i>Evaluación</i> .....	39
2.11.	<b>Evaluación histopatológica</b> .....	40
2.11.1	<i>Protocolo histopatológico de ratones (Mus musculus) a los que se les administró las tinturas</i> .....	40

<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>41</b>
3. <b>DEDUCCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>41</b>
3.1. <b>Control de la calidad de la materia prima.....</b>	<b>41</b>
3.2. <b>Control de calidad de las tinturas.....</b>	<b>42</b>
3.2.1. <i>Características organolépticas.....</i>	<b>43</b>
3.2.2. <i>Características físico – químicas de las tinturas.....</i>	<b>44</b>
3.3. <b>Tamizaje fitoquímico.....</b>	<b>46</b>
3.4. <b>Cromatografía.....</b>	<b>47</b>
3.4.1. <i>Sangre de Drago (Croton lechleri).....</i>	<b>47</b>
3.4.2. <i>Guarango (Caesalpinia spinosa).....</i>	<b>49</b>
3.5. <b>Control microbiológico.....</b>	<b>50</b>
3.6. <b>Evaluación <i>in vivo</i>.....</b>	<b>51</b>
3.6.1. <i>Actividad cicatrizante de las tinturas.....</i>	<b>51</b>
3.6.2. <i>Tiempo de cicatrización.....</i>	<b>51</b>
3.6.3. <i>Cicatrices al final del tratamiento.....</i>	<b>55</b>
3.7. <b>Análisis histopatológico.....</b>	<b>56</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>59</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>61</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>75</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Control de calidad de las tinturas de Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ) y Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Marzo 2014.....	75
ANEXO No. 2	Control de calidad físico de tinturas Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ) y Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Mayo 2014.....	75
ANEXO No. 3	Tamizaje Fitoquímico de las tinturas alcohólico, etéreo y acuoso de las tinturas. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2014.....	76
ANEXO No. 4	Análisis cualitativo por cromatografía de flavonoides de las tinturas en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Junio 2014.....	78
ANEXO No. 5	Materiales para inducir la herida en los animales de experimentación. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2014.....	79
ANEXO No. 6	Inducción de la herida a los ratones ( <i>Mus musculus</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2014.....	79
ANEXO No. 7	Protocolo farmacológico de cicatrización: heridas inducidas (PFC001).....	80
ANEXO No. 8	Análisis estadístico de la actividad cicatrizante: Tiempo de cicatrización.....	85

ANEXO No. 9	Análisis estadístico de la longitud de la cicatriz al final del tratamiento.....	86
ANEXO No. 10	Análisis estadístico del ancho de la cicatriz al final del tratamiento.....	88

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Obtención de tinturas por el método de maceración.....	33
CUADRO No. 2	Control de calidad de materia prima en el Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Riobamba. Mayo 2014.....	41
CUADRO No. 3	Características físico – químicas de las tinturas. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. Escuela de bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Riobamba. Mayo 2014.....	44
CUADRO No. 4	Resultado de la cromatografía para flavonoides (Quercetina) de la tintura de Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ). Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Riobamba. Junio 2014.....	48
CUADRO No. 5	Resultado de la cromatografía para flavonoides (Quercetina) de la tintura de ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ). Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Rbba. Junio 2014.....	49
CUADRO No. 6	Análisis microbiológico realizado a las tinturas. Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Riobamba. Junio 2014.....	50
CUADRO No. 7	Resultado del porcentaje de eficiencia de la cicatrización total de las heridas. Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio 2014.....	54
CUADRO No. 8	Resultado de cicatrices al final del tratamiento. Bioterio de las Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio 2014.....	55



## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Cierre primario de la herida.....	7
FIGURA No. 2	Cierre tardío primario de la herida.....	7
FIGURA No. 3	Cierre espontaneo o “secundario” de una herida.....	8
FIGURA No. 4	Cicatrización de espesor parcial.....	8
FIGURA No. 5	Primera fase de la cicatrización: coagulación..	10

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Ratones albinos machos jóvenes ( <i>Mus musculus</i> ).....	29
FOTOGRAFÍA No. 2	Control de calidad de las tinturas de Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ) y Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) Laboratorio de Productos naturales. Facultad de Ciencias. Escuela Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Marzo 2014.....	75
FOTOGRAFÍA No. 3	Lectura del índice de refracción y pH de tinturas: Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ) y Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) Laboratorio de Productos naturales. Facultad de Ciencias. Escuela Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Marzo 2014.....	75
FOTOGRAFÍA No. 4	Tamizaje Fitoquímico de las tinturas alcohólico, etéreo y acuoso de las tinturas. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2014.....	76
FOTOGRAFÍA No. 5	Prueba de Shinoda de las tinturas. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2014.....	76
FOTOGRAFÍA No. 6	Prueba de cloruro férrico de las tinturas. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2014.....	76
FOTOGRAFÍA No. 7	Prueba de Dragendorff de las tinturas. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2014.....	77
FOTOGRAFÍA No. 8	Prueba de Mayer de las tinturas. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2014.....	77

FOTOGRAFÍA No. 9	Prueba de Wagner de las tinturas. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2014.....	77
FOTOGRAFÍA No. 10	Prueba de espuma de las tinturas. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2014.....	77
FOTOGRAFÍA No. 11	Análisis cualitativo por cromatografía de flavonoides de las tinturas en el laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Junio 2014.....	78
FOTOGRAFÍA No 12	Cámara cromatográfica para el análisis cualitativo de flavonoides de las tinturas en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Junio 2014.....	78
FOTOGRAFÍA No 13	Revelado con sulfato de Cerio a las placas de cromatografía en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH. Junio 2014.....	78
FOTOGRAFÍA No 14	Materiales para inducir la herida en los animales de experimentación. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2014.....	79
FOTOGRAFÍA No 15	Inducción de la herida a los ratones ( <i>Mus musculus</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2014.....	79

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO No. 1	Promedio de días de cicatrización en heridas de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) obtenida de la aplicación de las cuatro tinturas elaboradas en comparación con el Eterol y crema comercial Lamoderm, en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio 2014.....	52
---------------	---	----

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Requerimientos agro – climáticos para el cultivo y desarrollo del guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ).....	21
TABLA No 2.	Tamizaje Fitoquímico.....	35
TABLA No. 3	Definición de los grupos de experimentación.....	38
TABLA No. 4	Determinación del olor, color y sabor de las tinturas.....	43
TABLA No. 5	Tamizaje Fitoquímico. Laboratorio Productos Naturales. Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Junio 2014. ....	46
TABLA No. 6	Edad y Peso de los animales de experimentación. Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio 2014.....	51
TABLA No. 7	Promedio de días de cicatrización en heridas de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) obtenidos de la aplicación de cuatro tinturas elaboradas con respecto a los controles positivos y negativo.....	52
TABLA No 8	Protocolo histopatológico de ratones ( <i>Mus musculus</i> ) de raza wistar a los que se les administro tinturas elaboradas a basa de Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ) y Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ).....	57

## INTRODUCCIÓN

El estudio de las plantas medicinales ha sido desde la antigüedad el mayor reto que la humanidad pudo haber recibido de la naturaleza, debido al poco conocimiento en lo que se refiere a plantas, sobre la composición química y más aún en la extracción de los principios activos. Hoy en día el uso de plantas como recurso terapéutico natural confirma la presencia de compuestos químicos con acciones farmacológicas, denominados principios activos, que constituyen muchas veces los ingredientes primarios utilizados por laboratorios farmacéuticos como punto de partida en el desarrollo de formas comerciales que serán patentadas para su uso terapéutico. (PAMOREYNA O, 2009).

Según Andre y Kata Belmar las plantas medicinales son un recurso, cuya parte o extractos se emplean como drogas en el tratamiento de alguna afección. La parte de la planta empleada medicinalmente se conoce con el nombre de *droga vegetal*, y puede suministrarse bajo diferentes formas galénicas: cápsulas comprimidos, crema, decocción, elixir, jarabe, tintura etc.

La medicina tradicional ha desarrollado tratamientos eficaces para las enfermedades con los productos naturales, especialmente con las plantas medicinales, los cuales reúnen conocimientos acumulados durante cientos de años.

Una de estas plantas ampliamente utilizadas desde épocas anteriores en la medicina popular y en años recientes, como un ingrediente importante en la curtiembre de pieles, y usados también en la elaboración de productos farmacéuticos, es el Guarango (*Caesalpinia spinosa*), debido a que sus frutos o vainas cuando están maduros contiene taninos hidrolizables (galotaninos) en un rango de 40% a 60% según las condiciones ecológicas en las que vegeta, ayudan en la acción farmacológica de cicatrización. (PUEBLA P, GUERRERO M, CORREA J, 2004)

Estos taninos presentes en el Guarango (*Caesalpinia spinosa*) tienen la propiedad de formar complejos con macromoléculas, particularmente con las proteínas: así forman

enlaces colocándose entre las fibras de colágenos de la piel, empleándose en medicina en tratamientos de escoriaciones y quemaduras de la piel donde las proteínas forman una capa protectora antiséptica bajo la cual se regeneran los tejidos.

Otra de las plantas utilizadas especialmente por los indígenas amazónicos del Ecuador es el látex del Sangre de Drago (*Croton lechleri*), que posee la actividad de cicatrización de heridas externas e internas en el cuerpo humano, pues tienen la capacidad de sellar frenando su infección y acelerando la cicatrización dejando la herida sin marca. (REYES V, 1994)

El estudio de plantas medicinales para el proceso de cicatrización el mismo que es un proceso natural que posee el cuerpo para regenerar los tejidos, sigue siendo motivo de estudio. Algunas plantas se las puede catalogar como cicatrizantes pues al aplicar sobre la herida la regeneración de tejidos se da, sin embargo al realizar la aplicación directa de la tintura en sí, no es muy adecuado debido a la concentración de principios activos que pueden provocar efectos adversos, es por ello que hoy en día la extracción hidroalcohólica mediante la técnica de maceración de plantas favorecen a la efectividad de la terapia natural, pues así se evitara posibles daños en la piel. Para la siguiente investigación se tomó en cuenta el trabajo elaborado por:

GUAMÁN M. “Comparación del Efecto Cicatrizante de Tinturas Elaboradas a Base de Guarango (*Caesalpinia spinosa*) y Sangre de Drago (*Croton lechleri*) en Heridas de Castración de Lechones (*Sus scrofa domestica*)”.

Dado que los antisépticos más usados en las curas de heridas (yodo, violeta de genciana, etc.) tienen su poder antiséptico en que alteran las proteínas de la membrana citoplasmática y modifican los grupos funcionales de proteínas y de ácidos nucleídos, tanto de los microorganismos como del sustrato más superficial de la herida, provocando un retardamiento de la cicatrización, y más aún el Eterol debido a la presencia de Violeta de Genciana dentro de su composición, se ha comprobado su acción carcinogénica en animales de experimentación, por estas razones, se decidió elaborar un producto natural sin efectos adversos, siendo el principal objetivo Comparar

del efecto cicatrizante de tintura elaboradas a base de guarango (*Caesalpinia spinosa*) y sangre de drago (*Croton lechleri*) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*); y específicamente Obtener tinturas estandarizadas al 20% de *Caesalpinia spinosa* y *Croton lechleri*, realizar el control de calidad de las tinturas y elaborar tratamientos: tintura al 100% de *Caesalpinia spinosa* y *Croton lechleri*, tintura mixta con concentraciones de 50 % de cada una, tintura mixta con concentraciones de 70% y 30% de *Croton lechleri* y *Caesalpinia spinosa* respectivamente, realizar el control de calidad durante el proceso y producto terminado y por último evaluar el efecto cicatrizante de las tintura contra el Eterol y la crema Lamoderm mediante ensayos in vivo en ratones (*Mus musculus*).

Este proyecto es de gran importancia porque ha permitido comprobar la eficacia de un tratamiento alternativo para la cicatrización de heridas en animales, que además es de bajo costo, de fácil aplicación y no produce efectos que desmejoran la calidad del animal y lo más importante que se ha podido utilizar materiales vegetales presentes en nuestra zona misma dando un valor agregado a la flora de nuestro país, demostrando una vez más el poder de sinergia de los vegetales.



# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1. FITOTERAPIA

En épocas en que el hombre sólo tenía a su disposición los recursos que el planeta le otorgaba, buscó en éstos las herramientas no sólo para satisfacer el hambre sino también para disminuir o sanar el dolor físico y evitar la muerte. (MARTINEZ, J., 2014 pág. 2)

La fitoterapia es la medicina más antigua y probada del mundo. De forma obligada los individuos y sociedades prehistóricas mantenían un fuerte contacto con la naturaleza, al principio, de una forma accidental repercutía en el hombre, ya fuera por la ingesta de plantas tóxicas o venenosas, picaduras de insecto etcétera. Estas situaciones pasaban a formar parte de la experiencia de las comunidades antiguas que se hacían eco de qué les dañaba, pero también y del mismo modo de una forma accidental, en el más de los casos azarosa, comprendían que la naturaleza era fuente de sustancias con propiedades curativas. La metodología empírica era la única guía sustentada por una base mística y religiosa en cuanto al uso de drogas vegetales; por tanto muchas veces no se apreciaban resultados, siendo la experiencia a lo largo de los siglos la que seleccionaría aquellas drogas útiles para el hombre. (BOMBARDELLI E, MARAZZO P. 1996, BAYÓN, A. 2008 pág. 483 - 511)

El primer tentativo de nomenclatura botánica fue elaborado por Leonhart Fuchs (1501-1566). En los mismos años, Paracelso (1493-1541) enfrenta estudios químicos concentrándose sobre los principios activos de las plantas. Magnol (1638-1715), es el que introduce la clasificación botánica la idea de la familia: todo el reino vegetal,

subdividido en 76 familias. Las ideas de Paracelso producen un giro en la terapéutica que se ve ligeramente compensada por la llegada de las drogas del Nuevo Mundo como la corteza de quina de empleo en la malaria o la hoja de digital en el tratamiento de la hidropesía. No obstante la tendencia al alza del uso del principio activo preconizado por Paracelso produce un rechazo de la utilidad de las drogas vegetales, actitud reforzada y potenciada por una serie de trabajos como los de Scheele que aísla ácidos orgánicos a partir de drogas vegetales. El principio activo consigue el predominio sobre la droga, más aún cuando se empiezan a conocer los mecanismos de acción. Toda esta situación inicia un proceso en el que la Fitoterapia se ve relegada y desprovista del atributo de ciencia, pasando a ser considerada como medicina popular. Más descubrimientos hizo Carlos Linneo (1707-1778), que, partiendo del descubrimiento de los órganos genitales en las flores de Camerario (1665-1721), divide por géneros y especies adoptando una especial nomenclatura de dos nombres, que permite identificar cualquier especie de hierba. (CAÑIGUERAL, C., 2006 pág. 25 - 29).

En el Ecuador el estudio de la biodiversidad ha aumentado notablemente, la utilización de plantas para la elaboración de medicamentos eficientes que no afecten a de gran manera a las personas, es así que los productos naturales ha ganada mayor espacio en el mercado, con esto se ha dado un cambio en la matriz productiva, pues ha mejorado el cultivo de plantas medicinales con fines curativos para el bienestar de toda la humanidad.

### **1.1. Concepto**

Es una “*terapia complementaria que utiliza plantas o parte de ellas donde el empirismo de la medicina tradicional se transforma en fundamento científico*”, en otras palabras a la medicina tradicional o autóctona se la pone a prueba en laboratorios siguiendo el método científico para validar o descartas el uso popular. La OMS 1978 reconoce la importancia de las plantas medicinales en el tratamiento y prevención de múltiples enfermedades, como también la relevancia a nivel económico al ser una fuente de descubrimiento de nuevas drogas que en algunos casos tiene un costo muy inferior a la

síntesis de nuevos fármacos. El regreso del interés científico sobre las plantas medicinales, investigando su riqueza y variabilidad química, ha impulsado una revalorización de su empleo en muchas partes del mundo, representando una forma complementaria de curar, en que el empirismo de la terapia queda atrás en función de la evidencia científica, armonizando medicina tradicional con las terapias oficiales de cada país. (ARTECHE A. 1994, AVELLO M, CISTERNAS I. 2010 pág. 5 - 9)

### ***1.1.1. Características de la fitoterapia***

Según Avello M, (2010) dice que diferencia de la medicina sintética o convencional, la fitoterapia utiliza matrices vegetales complejas. Estas matrices las constituyen plantas enteras, partes de ellas (hojas, raíces, etc), y también productos de éstas, resultados de tratamientos directos con algún disolvente o medio que concentre los compuestos afines y faciliten su administración, son los llamados extractos. En cualquier caso en esta matriz compleja nos encontramos con un sin número de compuestos de diferente naturaleza química, a esta mezcla se la llama fito-complejo que es la mezcla de sustancias activas y otras acompañantes que actúan en conjunto para lograr un mismo fin terapéutico, que no sería el mismo si se administraran por separado, o sea como mono-sustancias.

Estas sustancias activas son llamadas técnicamente metabolitos secundarios y se refieren a las sustancias que son el producto secundario de la fotosíntesis y que interviene en procesos vegetales como la defensa frente a patógenos, y protección a los rayos UV, entre otros. La mezcla de metabolitos secundarios son únicos para cada especie, puesto que su biosíntesis se rige principalmente por la genética vegetal, pero también influyen la fisiología, el estrés, la procedencia geografía y condiciones de recolección del vegetal, entre otros factores. (SAZ PABLO, 2014 pág.156 - 175)

Los metabolitos secundarios correspondientes a compuestos que dependiendo de la orden genética pueden ser biosintetizados siguiendo diversas rutas metabólicas, así

podemos encontrar compuestos de la familia fenólica como los flavonoides; terpénica como saponinas y aceites esenciales; alcaloides (alcaloides varios como la cafeína); esteroide como los cardiotónicos y fitohormonas y polímeros heterogéneo como las gomas y mucilagos. (HERNANDEZ J, 1992, NAVARRO, E., DIAZ A., et al, 2000 pág. 89 - 95)

Todas estas sustancias son verdaderas moléculas químicas que tienen sobre nuestro organismo diferentes acciones, las cuales -si son bien usadas- pueden ayudarnos a solucionar grandes problemas de nuestra salud e incluso prevenirlos. Pero que si se usan en una forma irracional, pueden en muchos casos hasta ocasionar la muerte por intoxicación. (BAYÓN, A. 2008)

## **1.2. Fitomedicamentos**

Los Fitomedicamentos, según la Organización Mundial de la Salud, son “Productos medicinales acabados y etiquetados cuyos ingredientes activos están formados por partes aéreas o subterráneas de plantas u otro material vegetal, o combinaciones de éste, en estado bruto o en forma de preparaciones vegetales.

La generación de investigación en las plantas medicinales está logrando:

- Obtener inventarios y clasificaciones terapéuticas de las plantas.
- Hallar criterios científicos que aseguren la calidad de las preparaciones y su eficacia para el tratamiento de algunas enfermedades.
- Desarrollar normas internacionales que regulen los Fitomedicamentos.

### **1.2.1. Fitofarmacèuticos**

Según la directiva 91/414/CEE. Los productos fitofarmacèuticos son sustancias activas y preparados que contienen una o más sustancias activas que se presentan en la forma en que se entregan al usuario y que están destinadas a:

1. Proteger los vegetales o los productos vegetales contra todas las plagas o a impedir su acción.
2. Ejercer una acción en el proceso vital de los vegetales, siempre que no se trate de sustancias nutritivas (por ejemplo, reguladores de crecimiento)
3. Garantizar la conservación de los productos vegetales, siempre y cuando dichas sustancias o productos no estén sujetos a disposiciones especiales del Consejo o de la Comisión a la que concierne las disposiciones sobre conservantes
4. Destruir los vegetales no deseados
5. Destruir partes de plantas, o controlar o evitar un crecimiento no deseado de las plantas.

### **1.3. Heridas**

Herida es una pérdida de continuidad de la piel o mucosa producida por algún agente físico o químico.

#### ***1.3.1. Clasificación de heridas***

Las heridas se pueden clasificar en dos categorías generales: agudas y crónicas. Las heridas agudas “normalmente siguen de un proceso de reparación ordenado y secuencial que da como resultado el restablecimiento continuo de la integridad anatómica y funcional”. Por el contrario, “las heridas crónicas no siguen un proceso ordenado y secuencial para producir integridad anatómica y funcional, o sigue el proceso de reparación alcanzar un resultado anatómico y funcional sostenido”. (SALEM CHRISTIAN, et al., 2000 pág. 90 - 99).

#### ***1.3.2. Cicatrización***

Cicatrización de una herida es un término vago que con frecuencia distrae al clínico de su atención del mecanismo específico incluido en un proceso de cicatrización

diagnostico en particular. Sólo definiendo los procesos biológicos específicos de una herida en particular es posible adoptar una conducta racional para la terapéutica. (MODOLIN M, 1992 pág. 9 - 13).

**Cicatriz:** Son marcas o señales en la piel que se producen como resultado de la curación de una herida o lesión. El proceso se realiza por la acción del colágeno que producen los fibroblastos de las células cercanas a la herida. El exceso de colágeno es el que produce la cicatriz que suele ser roja en principio y, poco a poco, alcanza la coloración de la piel. El tejido de la cicatriz no es tan elástico ni posee las secreciones aceitosas del tejido normal, lo cual hace que aparezcan más secas al tacto y que siempre posean una cierta sensación de picor o dolor. El proceso de cicatrización suele ser más intenso en las personas jóvenes que producen cicatrices más grandes y más gruesas que las mayores. (CEBRIAN, J. 2013)

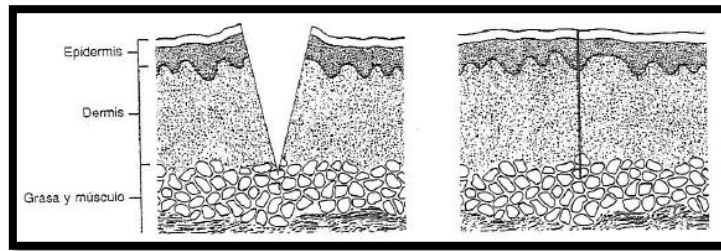
#### *1.3.2.1. Fitoterapia de la cicatrización*

La función principal de la fitoterapia en el tratamiento de las cicatrices se centra en el proceso de cicatrización y supone la utilización de una serie de plantas que tienen como objetivo fundamental:

- Desinflamar la herida.
- Favorecer la cicatrización al incrementar la regeneración celular.
- Impedir las infecciones bacterianas en heridas producidas por quemaduras, cortes, acné, etc. (GARCÍA, A. 1995 pág. 7)

#### *1.3.2.2. Tipos de cicatrización*

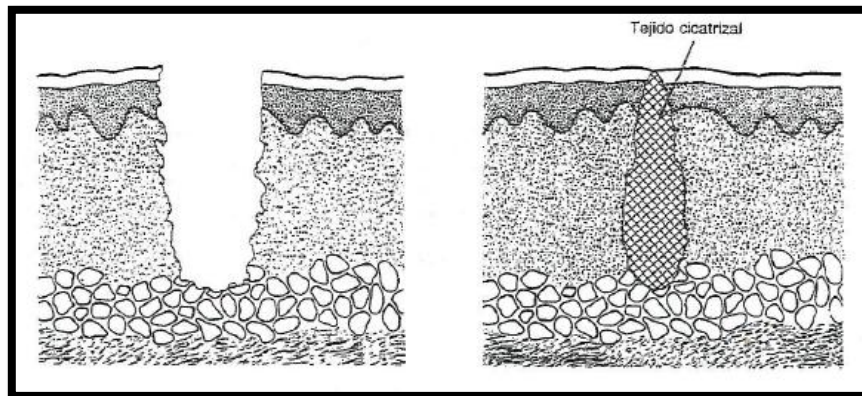
En el **cierre primario** se aproximan los tejidos alterados por suturas, grapas o telas adhesivas. Con el tiempo la síntesis, depósito y enlace transversal de colágeno y otras proteínas matrices, que tienen una importancia vital en este tipo de reparación, proporcionan al tejido fuerza e integridad. Fig. 01.



Fuente: Cohen, K. Robert

**FIG. 01. CIERRE PRIMARIO DE LA HERIDA.**

En el **cierre primario tardío**, la aproximación de los bordes de la herida se pospone hasta varios días después que se originó la herida. (Fig. 02.) En el retraso del cierre está indicado para prevenir la infección de heridas con una contaminación bacteriana importante, cuerpos extraños o traumatismo tisular extenso.

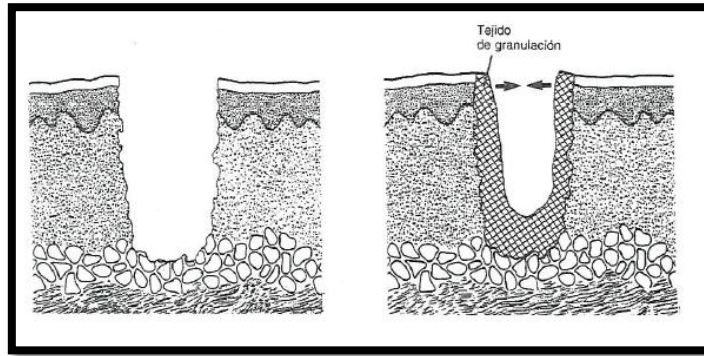


Fuente: Cohen, K. Robert

**FIG. 02. CIERRE PRIMARIO TARDIO DE LA HERIDA.**

Durante el periodo en que permanece abierta, es necesario cambiar apósitos de solución salina estéril, húmedos, cuando menos dos veces al día para que la herida sea óptima para el cierre. Debe evitarse el uso de agua oxigenada y yodóforos en estas heridas abiertas porque estas soluciones destruyen los tejidos del huésped y las bacterias. La justificación para retrasar el cierre primario se basa en los eventos biológicos normales de la cicatrización. Si la herida permanece abierta, es menor la probabilidad de invasión bacteriana. En el tiempo que la herida permanece abierta ocurre cambios que disminuyen de manera significativa la probabilidad de infección después del cierre.

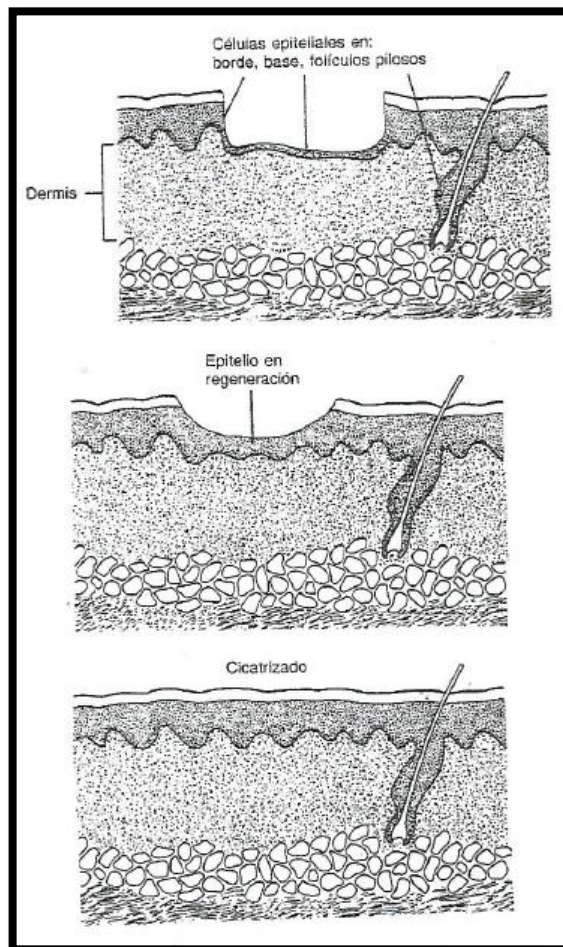
El **cierre espontáneo o cierre “secundario” de una herida**, ocurre cuando los bordes de la misma se acercan entre sí por el proceso biológico de contracción (Fig. 03).



Fuente: Cohen, K. Robert

**FIG. 03. CIERRE ESPONTÁNEO SECUNDARIO DE UNA HERIDA**

La falta de cierre espontáneo de una herida abierta es un fenómeno que origina una herida crónica. Las heridas de espesor parcial cicatrizan por el proceso de epitelización. Ocurre primero por migración y a continuación mitosis de células epiteliales (Fig. 4). (COHEN, K. ROBERT, F, JIMENEZ E, 2008, VERDU J, NOLASCO B., 2013)



Fuente: Cohen, K. Robert

**FIG. 04. CICATRIZACIÓN DE ESPESOR PARCIAL.**



### *1.3.2.3. Mecanismos relacionados con la cicatrización de heridas*

En todos los procesos de cicatrización participan tres mecanismos biológicos muy distintos; sin embargo, hay diferencias importantes en la contribución de cada uno según el tipo de herida.

La **epitelización** es el proceso por el cual migran queratinocitos y a continuación se dividen para recubrir la pérdida de espesor parcial de piel o mucosa.

La **contracción** es el mecanismo para el cual hay un cierre espontáneo de heridas cutáneas de espesor total o constricción de órganos tubulares, como el colédoco o el esófago, después de una lesión.

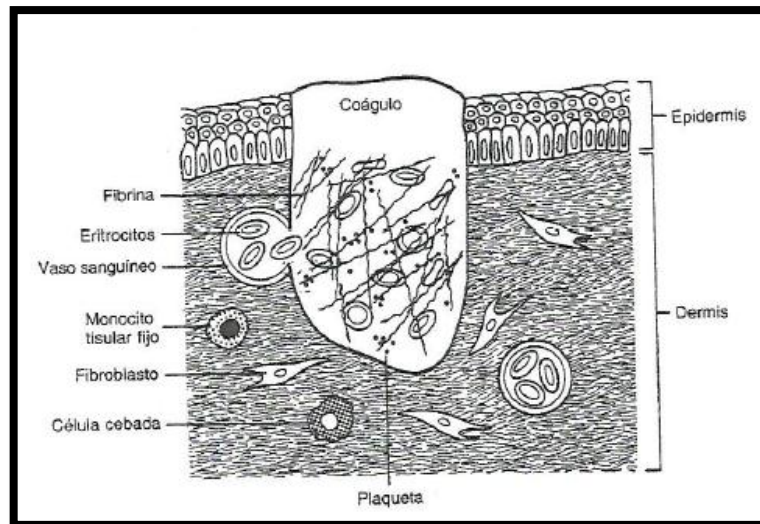
El **depósito de matriz de tejido conjuntivo** es el proceso por el cual se incorporan fibroblastos hacia el sitio de la lesión y producen una nueva matriz de tejido conjuntivo. Este proceso es muy importante en el cierre primario de heridas, sean de piel, tendones o anastomosis intestinales. La colágena transversal y su organización en el tejido conjuntivo que se forma en el proceso proporcionan la fuerza e integridad a todos los tejidos. (DOMINGUEZ R, GALIANO J, et al., 2002, COHEN, K. ROBERT, F. pág. 31 - 68)

### *1.3.2.4. Fases de la cicatrización*

La cicatrización de una herida aguda, con cierre primario o una herida originada por cualquier mecanismo, se traumatismo, sustancia química, fricción, calor o frío, suele seguir un patrón predecible en circunstancias normales. En condiciones normales, las fases de la cicatrización se dividen cuatro fenómenos específicos.

**Coagulación:** Una lesión causa hemorragia por los vasos y linfáticos dañados (Fig. 05). Casi de inmediato ocurre vasoconstricción por liberación de catecolaminas. Las células cebadas de los tejidos liberan otros diversos compuestos vasoactivos, como bradicinina, serotonina e histamina, que inician el proceso de diapédesis, el paso de células intravasculares hacia el espacio extracelular dentro del área lesionada.

Las plaquetas derivadas de la hemorragia forman un coágulo hemostático y liberan factores de coagulación para producir fibrina, que es hemostática y forma una malla para la migración adicional de células inflamatorias y fibroblastos. La fibrina se produce a partir del fibrinógeno, al que activa la trombina que deriva de su precursor la protrombina en presencia de una tromboplastina. Si se elimina la malla de fibrina, disminuye la fuerza final de la herida.



Fuente: Cohen, K. Robert

**FIG. 05. PRIMERA FASE DE LA CICATRIZACIÓN: COAGULACIÓN.**

Las plaquetas también son muy importantes porque son las primeras células que producen varias citosinas esenciales que modulan la mayor parte de los fenómenos subsiguiente de la cicatrización de una herida.

**Inflamación:** Esta fase se caracteriza por la migración secuencial de leucocitos hacia la herida. En el transcurso de 24 h predominan en la lesión leucocitos polimorfonucleares seguidos por una preponderancia de macrófagos.

**Fibroplasia:** Durante esta fase ocurren los fenómenos de la cicatrización más importante. En particular, se sintetiza la proteína fibrosa colágena. No solo la síntesis sino también los enlaces cruzados y el depósito de colágena y otras proteínas de la matriz es lo que confiere a la herida cicatrizada resistencia e integridad. Dentro de las 10 h que siguen a la ocurrencia de la lesión hay evidencia de incremento de la síntesis de colágeno en la herida. Luego de cinco a siete días la síntesis de colágena alcanza su máximo y después declina gradualmente. La colágena es muy peculiar, sólo después de

ser secretada en el medio extracelular alcanza la resistencia característica del tejido gracias al desdoblamiento de péptidos pro-colágena y los pasos para formar enlaces cruzados. Además hay una producción importante de sustancia fundamental dentro de la matriz y proliferación de vasos sanguíneos.

**Remodelación:** La herida es un proceso “regulado en aumento” hasta la “remodelación”. En ese momento, disminuye de manera gradual las células de inflamación aguda y crónica, cesa la angiogena y termina la fibroplasia. Se restablece de manera gradual el equilibrio entre la síntesis y degradación de colágena Normalmente, una reparación fibrosa es imperfecta, pero funcional y no excesiva. (COHEN, K. ROBERT, F., DOMINGUEZ et al., 2002, VALENCIA C, 2010, GARCIA A, LEYVA FRANCISCO, 2012 pág. 31 - 68)

### ***1.3.3. Cicatrizantes químicos***

Los medicamentos cicatrizantes son aquellos que dentro de su composición química poseen la síntesis de un principio activo. (VADEMECUN).

Entre estas tenemos:

#### ***1.3.3.1. Becaplermina***

#### **Mecanismo de acción**

Favorece la curación de heridas al promover la quimiotaxis y proliferación de células involucradas en la reparación de heridas y al estimular la formación del tejido granular.

#### **Modo de administración:**

Aplicar mediante un aplicador limpio y extender por el área ulcerada. El lugar de aplicación se debe cubrir con un apósito de gasa humedecido con solución salina que mantenga el entorno de la herida limpio y húmedo. Lavar las manos antes de la aplicación.

### **Contraindicaciones**

Hipersensibilidad, pacientes diagnosticados de cáncer, úlceras infectadas.

### **Interacciones**

No aplicar con: otros medicamentos tópicos.

### **Reacciones adversa**

Úlcera cutánea infectada, celulitis, osteomielitis, erupción, eritema, dolor.

#### *1.3.3.2. Blasto-estimulina pom. 1%*

### **Mecanismo de acción**

Cicatrizante y antiinfecciosa

### **Indicaciones terapéuticas**

Cicatrización de heridas. Úlceras, llagas, escaras y demás efracciones de la piel. Algunos tipos de quemaduras. Eczemas e intertrigos. Coadyuvante en heridas quirúrgicas y en el prendido de injertos cutáneos. Especialmente en procesos ya infectados o con peligro de contaminación.

#### *1.3.3.3. Silvederma Aerosol 1 g/100 ml*

### **Mecanismo de acción**

Acción bactericida y bacteriostática frente a bacterias Gram+ y Gram-, particularmente a *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. aerogenes* y *K. pneumoniae*.

### **Indicaciones terapéuticas**

Tratamiento y prevención de infecciones en quemaduras de 2º y 3º, úlceras varicosas y de decúbito.

## **Contraindicaciones**

Hipersensibilidad a sulfamidas. Recién nacidos, prematuros, mujeres gestantes a término y lactancia en lesiones de gran superficie.

## **Embarazo**

No administrar a mujer embarazada a término por riesgo de ictericia nuclear.

## **Lactancia**

No debe administrarse sulfadiazina argéntica en período de lactancia por el riesgo de ictericia nuclear.

## **Reacciones adversas**

Leucopenia. Si hay absorción cutánea riesgo de efectos sistémicos: hematológicos, intestinales, renales y cutáneos.

### ***1.3.4. Cicatrizantes naturales***

Las cicatrices en la piel suelen ser bastante complicadas de sanar en algunas personas. Pero lo cierto es que siempre hay remedios caseros y naturales en los cuales apoyarse. Algunas plantas tienen especial capacidad para trabajar sobre el cutis lastimado y colaborar así en su regeneración.

1. Uno de los más populares remedios naturales para la cicatrización es el aloe vera. Casi mágico en cuestiones relacionadas con la piel, además es súper económico y fácil de aplicar. Estudios realizados por Basantes E. 2010, actividad cicatrizante del acíbar de la aloe vera. La actividad se da por la presencia de Aloína, un componente con alto poder cicatrizante.
2. Científicos de las carreras de Biología, Química y Farmacia, después de cinco años de estudios y pruebas, lograron extraer los componentes químicos activos de la chilca (*Baccharis latifolia*) e industrializarlos en una pomada. Esa investigación fue la que obtuvo el primer lugar en la categoría Ciencias

Agrícolas del Premio Plurinacional de Ciencia y Tecnología del Ministerio de Educación.

3. Efecto del llantén mayor en la cicatrización secundaria de alvéolo post exodoncia: estudio clínico preliminar en adultos. Esta planta posee las propiedades antisépticas, astringente, desinflamante y cicatrizante. (NEUMANN, C., 2013).

#### **1.4. Vegetales utilizados**

##### ***1.4.1. Sangre de Drago (Croton lechleri)***

De la diversidad de vegetación en la Amazonia, la Sangre de Drago ha sido uno de los árboles que se ha mantenido envuelto en una aureola mítica. Su singular aspecto ha contribuido a que estos gigantes del reino vegetal hayan sido objeto de estudio por más de un siglo. Al añadir también el interés comercial por sus propiedades tintóreas y farmacológicas, se comprende que esta especie fuese ya conocida en la Roma Imperial hace 2.000 años. (PAMO-REYNA O, 2009)

Aunque hasta 1979 esta sustancia era totalmente desconocida tanto en Europa como en Norteamérica. Fueron dos científicos (BETTOLO Y SCAPETI) quienes comenzaron a interesarse por sus propiedades cicatrizantes. Posteriormente, VAISBERG, MELENDEZ y TAYLOR, entre otros, estudiaron esta sustancia, cada uno en su especialidad: botánica, física, biología, etc. (LLOVERAS, G. HERNANDEZ, J. 1999)

La Sangre de grado (*Croton lechleri*), es una especie forestal que en los últimos años ha incrementado su demanda en el mercado nacional e internacional por las propiedades medicinales atribuidas al látex en la cicatrización de heridas y en el tratamiento de afecciones estomacales como úlceras. La producción actual del látex, procede de

árboles de regeneración natural existentes en los bosques secundarios de la Amazonía y, escasamente de árboles plantados. (CASTILLO, A. DOMINGUEZ, G. 2010 pág.31)

#### *1.4.1.1. Taxonomía*

- **Reino:** Plantae
- **División:** Angiospermas.
- **Clase:** Dicotiledóneas.
- **Orden:** Geraniales.
- **Familia:** Euphorbiaceae
- **Género:** Croton.
- **Especie:** *lechleri* CHOLOSTORE.COM 2014

#### *1.4.1.2. Descripción*

Se trata de un árbol o arbusto, perteneciente a la familia de las Euphorbiaceae, caracterizado por presentar un diámetro de 40cm y una altura entre 5 y 6 metros (excepcionalmente alcanza 25 – 30 metros); corteza blanquecina de 20 – 25 mm. de espesor provista de un látex rojizo; ramaje cubierto por pelos estrellados, hojas anchas, ovales, cordiformes, glandulares en la base y plurinervadas; pecíolos alargados; inflorescencias en forma de racimos con flores unisexuales de color blanco (las masculinas hacia el ápice y las femeninas hacia la base), y un fruto capsular pubescente de 5mm de diámetro. (CASTILLO – QUILIANO A., 2010 pág. 35)

#### *1.4.1.3. Hábitat*

En el alto Amazonas, en Perú, Ecuador y Brasil, a una altitud de entre los 1.200 y los 3.000 metros, en el interior de los bosques lluviosos de montaña, tiene su hábitat natural la sangre de drago (*Croton lechleri*), un árbol de la familia de las euforbiáceas que puede llegar a medir entre 10 y 25 metros de altura, con hojas en forma acorazonada. (ALNICOLSA, 2009)

#### *1.4.1.4. Propiedades físicas del látex*

El látex del sangre de drago (*Croton lechleri*) presenta un aspecto similar al de la sangre humana y, algunas propiedades físicas son comunes entre sí. Es una sustancia líquida de color rojo, ligeramente densa y de gran viscosidad; al contacto con el aire se endurece rápidamente dejando mancha apreciable en el sitio de aplicación, al ser agitada o friccionada sobre la piel, deja abundante espuma, tiene un gran poder de adhesión, su olor es agradable, no así su sabor que es amargo, no es miscible en agua, pero sí en alcohol a temperatura ambiente, siendo su punto de ebullición 91°C, y el de congelación 0°C. No es inflamable. (HOLISTICO, D. 2014 pág. 1)

#### *1.4.1.5. Cultivo*

Desarrolla en climas tropical y subtropical hasta los 2,000 msnm, en suelos arcillosos a arenosos, con buen drenaje, buena aireación, y moderadamente ácidos o alcalinos. Se propaga por semillas, las mismas que deben ser sembradas al inicio de la época de lluvias. (ONG, 2011)

#### *1.4.1.6. Composición química*

Látex: tiene la presencia de esteroides, cumarinas, alcaloides (tipo isoquinoléico y fenantrénico (taspina) con una concentración del 9%, flavonoides, taninos (54%), saponinas (baja concentración), antocianinas, proantocianidina, proantocianidina, proantocianidina SP-303, antracenos; compuestos reductores (4%) como lactosa, galactosa y ramnosa, triterpenoides, compuestos fenólicos (ácido gálico); además contiene vitamina A, E Y C; contiene ácidos orgánicos de carácter débil, almidón, celulosa, grasas, lignanos (dihidrobenzofurano 3,4-0-dimetilcedrusina y dihidrobenzofurano 4-0-metilcedrusina), mucílagos, proteínas, catequinas (epicatequina, galocatequina, epigallocatequina)



**Hojas:** alcaloides, aporfina (taliporfina y glaucina). (CHOLOSTORE. 1994. Y PERCINOS, P. 1979 pág. 1)

#### *1.4.1.7. Propiedades terapéuticas*

Las mismas se centran en su acción cicatrizante en piel y mucosa gástrica, participando en ello compuestos polifenólicos, lignanos y alcaloides, con marcada actividad antioxidante y antiinflamatorio. (ALONSO, J. 2004.)

##### *1.4.1.7.1. Actividad cicatrizante*

La sangre de drago estimula in vitro la contracción de la herida, ayuda en la formación de la costra y regenera rápidamente la piel ayudando a la formación de colágeno y se ha demostrado que el látex total es más activo que sus componentes aislados. La actividad cicatrizante está dado por la presencia de taninos y alcaloides. (ACOSTA, I. 2013)

##### *1.4.1.7.2. Acción antiviral y antibacteriana*

Varios estudios demuestran la actividad antiviral de sangre de drago. Experimentos in vitro muestran que las proantocianidina presentes inhiben diferentes virus DNA y RNA, incluyendo el virus herpes (HSV tipos 1 y 2), el virus de la hepatitis (A y B), el virus de la influenza A y PIV. También es efectivo contra el virus RSV (virus sincitial respiratorio). Sin embargo, es inactivo frente el citomegalovirus humano. En ensayos vaginales en ratón, reduce significativamente la formación de la lesión cuando se aplica tópicamente. (PERCINOS, P. 1979, CORRALES L., CASTILLO A., et al, 2013 pág. 68)

#### 1.4.1.7.3. *Actividad inmunomoduladora y antioxidante*

Mediante ensayos hemolíticos in vitro, la sangre de drago (*Croton lechleri*) presenta una potente actividad inhibidora sobre las vías clásica y alternativa del sistema del complemento e inhibe la proliferación de células T. Muestra una acción dual en la modulación de la producción de especies reactivas de oxígeno (actividad antioxidante) y de la fagocitosis (inhibición/estimulación), dependiendo de la concentración ensayada. (SANDOVAL M., AYALA S., et al., 2006, ACOSTA, I. 2013 pág. 199 -205)

La actividad antioxidante de sangre de drago (*Croton lechleri*) resultaría importante ya que está suficientemente comprobado el papel que juega los radicales libres en los procesos inflamatorios, angiogénicos y oncogénicos. (MONTE, M. 1994.)

#### 1.4.1.7.4. *Actividad de infecciones gástricas*

En uso interno la sangre de drago se indica para proteger y reparar las mucosas gastrointestinales. Combate con eficacia la acción de la bacteria intestinal *Helicobacter pylori*, responsable de muchas úlceras gastroduodenales, al alcalinizar el medio donde prosperan y dificultar así su reproducción. Se indica también para mediar en infecciones gástricas e intestinales en gastroenteritis, gastritis, colitis ulcerosas, diarreas y síndrome del colon irritable. (BARAHONA, S. 2010, GONZALES L., LLANOS J, 2012)

#### 1.4.1.7.5. *Actividad analgésica y antiinflamatoria*

En estudios de laboratorio de Wallace demuestran que la sangre de drago (*Croton lechleri*) bloquea la activación de las fibras nerviosas que transmiten dolor al cerebro. Por tanto funciona como un analgésico de amplio espectro. Reduce la reacción inflamatoria evitando hinchazón en la zona afectada y ayuda a que se forme costra regenerándose la piel de manera rápida. (BARAHONA, S. 2010.)

#### 1.4.1.7.6. *Efectos adverso y/o tóxicos*

Estudios preliminares indicaron que la sangre de drago (*Croton lechleri*) contenía en composición, éteres diterpénicos promotores de tumores, lo cual fue descartado años más tarde. (Hecker E., 1981). Como así también por medio de estudios cromatográficos y de resonancia magnética nuclear (Pieters., 1992). La administración de cloruro de taspina demostró que dicho alcaloide no es toxico para fibroblastos humanos del prepucio en concentraciones menores de 150ng/mL. (VAISBERG A. et al., 1989)

#### 1.4.2. *Guarango (Caesalpinia spinosa)*

El guarango (*Caesalpinia spinosa*) es una especie nativa de la Región Andina, reconocida ampliamente. Al ser una leguminosa fija nitrógeno del aire y permite recuperar suelos erosionados. Además es una planta forrajera, melífera y su madera es dura, por lo tanto, apta para muchos usos y aplicaciones. Sin embargo, su principal característica comercial y agroindustrial es el contenido de taninos en sus frutos maduros (vainas). (NARVAEZ, A. 2009)

##### 1.4.2.1. *Taxonomía*

- **Reino:** Vegetal
- **División:** Espermatofita.
- **Clase:** Angiosperma.
- **Orden:** Fabales.
- **Familia:** Caesalpinacea
- **Género:** Caesalpinia
- **Especie:** *spinosa* (NIETO, C., HIDROBO, G. 2011)

#### 1.4.2.2. Descripción

El guarango (*Caesalpinia spinosa*) es un árbol que puede llegar hasta 12m de altura, en su madurez dependiendo de la fertilidad del suelo y disponibilidad de agua. El diámetro del tronco puede llegar a 60 cm y está provisto de una corteza gris espinosa, agrietada y con ramillas visiblemente frondosas. Posee un sistema radicular circular con raíces profundas y pivotantes que facilitan la absorción de aguas de los horizontes inferiores del suelo y otorgan tolerancia de la planta a sequías prolongadas o ambientes con características de aridez. (BARRIGA, C. 2008)

La copa es irregular, poco densa y con ramas laterales y otras ascendentes. Las hojas son alternadas compuestas, pinnadas o bipinnadas y dispuestas en espiral con 6 a 8 pares de folíolos y miden de 8 a 15 cm de largo. Los folíolos son ovoides y brillantes, de color verde oscuro. Las inflorescencias son racimos de color amarillo- rojizo y miden de 15 a 20 cm. Los frutos son vainas aplanadas e indehiscentes de color naranja cuando están maduras de 8 a 10 cm de largo por 1 a 2 cm de ancho que contiene de 4 a 7 semillas son ovoides y ligeramente aplanadas de 4 a 7 mm de diámetro, presentan un mesocarpio comestible y transparente, al madurar son de color pardo negruzco, duras y brillosas debido a que están cubiertas por un tegumento impermeable. (MANCERO, L. 2008)

#### 1.4.2.3. Distribución geográfica

El guarango (*Caesalpinia spinosa*), es una especie adaptada a los ecosistemas de bosque seco bosque espinoso, con buena tolerancia a sequías sin embargo es sensible a fríos intensos y al exceso de humedad ambiental. (LARREA, M. 2011)

Los requerimientos básicos de clima y suelo para un buen desarrollo de la planta se resumen en la TABLA N° 01.

**TABLA N° 1 REQUERIMIENTOS AGRO - CLIMATICOS PARA EL CULTIVO Y DESARROLLO DEL GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*)**

VARIABLE	INDICADOR	FUENTE
<b>Zona de vida</b>	Bosque seco montano bajo, bosque espinoso	Hernández, 2002
<b>Altitud</b>	De 200 a 2600 m.s.n.m	Barriga, 2008
<b>Suelos aptos</b>	Arenoso, franco arenosos, calcáreos, degradados, descartados para agricultura.	Mancero 2008
<b>Humedad relativa</b>	Menor a 80%	
<b>Precipitación</b>	Menor a 750 mm por año	REDFOR, 1996
<b>Temperatura ambiental</b>	De 13 a 22°C	Villanueva, 2007
<b>Vientos</b>	Tolerantes, pero los vientos trozan las ramas provoca caída de frutos	

Realizado por: Pamela Allaica

#### 1.4.2.4. Composición química

**Semillas:** aceites volátiles, ácidos grasos (lípidos 5,68%), antocianinas esteroides, triterpenoides, flavonoides, resinas, taninos (0,22%), antracenos, hidratos de carbono (fructosa, glucosa, sacarosa), proteínas (17,86%), vitaminas además iones y minerales (calcio 80mg, magnesio 292mg, hierro 20mg, fósforo 270mg, potasio, cloruros, nitratos, sulfatos).

**Hojas:** glicósidos, gomas, mucílagos, taninos (12.7% en la forma de taninos gálicos), antraquinonas: agliconas libres, C-glicósidos, esteroides y flavonoides. (HUARINO, M. 2008)

#### 1.4.2.5. Aprovechamiento integral de las vainas

Se encuentra al estado silvestre y poseen un inmenso potencial médico, alimenticio e industrial, siendo de gran utilidad para la producción de hidrocoloides o gomas, taninos y ácido gálico, entre otros. (LARREA, M. 2011)

El fruto o vaina del guarango (*Caesalpinia spinosa*) presenta dos partes principales que son, la cascara externa o pericarpio y la semilla. La cascara del fruto representa aproximadamente el 63 % del peso de los frutos y es la parte que contiene la mayor concentración de taninos que oscila entre 40 y 63%. (MANCERO, L. 2008)

Estos taninos se utilizan en la industria para la fabricación de diversos productos, o en forma directa en el curtido de cueros, fabricación de plásticos y adhesivos, como clarificador de vinos, como sustituto de la malta para dar cuerpo a la cerveza, en la industria farmacéutica por tener un amplio uso terapéutico. (AVELLO, M., CISTERNAS, I. 2010.)

Otro elemento que se obtiene de los taninos de la tara, es el ácido gálico, que es utilizado como antioxidante en la industria del aceite, en la industria cervecera como un elemento decolorante, en fotografía, tintes, como agente curtiembre, manufactura del papel, en productos de farmacia. (GUTIERREZ, K. 2006.)

Las semillas, de uso forrajero, tienen en su composición porcentual en peso el 40% de cáscara, 27% de gomas, 26.5% de germen (almendra) con altísimo contenido de proteínas de gran concentración de metionina y triptófano de buena calidad; grasa y aceites que podrían servir para el consumo humano y 7.5% de humedad. (DOSTERT, N. 2009.)

Industrialmente se integra como parte de los medicamentos gastroenterológicos, para curar úlceras, cicatrizantes, por sus efectos astringentes, antiinflamatorios, antisépticos, antidiarreicos, antimicóticos, antibacterianos, odontálgicos y anti-disentéricos, siendo más utilizados aquellos que producen constricción y sequedad. (GUTIERREZ, K. 2006.)

### **1.4.3. Taninos**

Según Bate Según Smith y Swain, 1962: “Compuestos fenólicos hidrosolubles, de masa molecular comprendida entre 500 y 3000 que presentan junto a las reacciones clásicas de los fenoles, la de precipitar los alcaloides, la gelatina y otra proteínas.

Los taninos tienen la propiedad de formar complejos con macromoléculas, particularmente con las proteínas; así forman enlaces colocándose entre las fibras de colágeno de la piel de los animales, por lo que se usan para "curtir la piel", dándole flexibilidad y resistencia. Esta propiedad explica también su astringencia, al precipitar las glicoproteínas contenidas en la saliva, haciendo que ella pierda su poder lubricante. (AGANDA A. 1999, HUARINO, M. 2011)

El tanino es un compuesto que se oxida al contacto con el aire, es inodoro y de sabor agrio, soluble en agua, alcohol y acetona; reacciona con el cloruro férrico y otras sales; es combustible con un punto de inflamación de 199°C, una temperatura de auto ignición de 528.5°C; poco tóxico por ingestión o inhalación. (AVELLO M, CISTERNAS I. 2010)

Químicamente se diferencian los taninos hidrolizables o hidrosolubles y los taninos condensados no hidrosolubles.

Los taninos hidrolizables o gálicos/ elágicos son ésteres de glucosa y ácido gálico, se hidroliza fácilmente en medio ácido mientras que los taninos condensados o proantocianidinas son dímeros o polímeros flavánicos (hasta 50 unidades), se forman por polimerización de las catequinas y leuco-antocianidinas, son muy resistentes a la hidrólisis, en caliente y en medio ácido dan lugar a antocianidinas: Polímeros insolubles. (YÚFERA P. 1979. HERNÁNDEZ J, DELGADO G, 1992).

### **1.4.4. Propiedades químicas**

- Los taninos solubles en agua son precipitados de sus soluciones por sales de metales pesados (Cu, Fe, Hg, Pb, Zn, Sn), rara vez se los obtiene cristalinos y los

agentes oxidantes los transforman en productos de color oscuro llamados Flobafenos.

- Por poseer –OH fenólicos se colorean con las sales férricas, los galotaninos y elegitaninos dan coloración azul-negro, mientras que los taninos catéquicos dan coloración marrón-verdoso. Precipitan con los alcaloides, molibdato de amonio, tugstato de sodio y soluciones de albúmina (gelatina).
- Los taninos catéquicos son precipitados por el agua de bromo, el formol clorhídrico. Todos los taninos son fácilmente oxidables sobre todo en medio alcalino. (SALVAT A, et al., 2004, SANTOS S. C, et al., 2007 pág. 230 - 234)

#### ***1.4.5. Aplicaciones***

La propiedad que tienen los taninos de precipitar a las proteínas se utiliza en el proceso del curtido, por la cual la piel de los animales se convierte en cuero. No sólo afecta la flexibilidad, resistencia e impermeabilidad del cuero, sino que lo preserva debido a sus propiedades antisépticas. Los intensos colores que dan con las sales de hierro hacen que se utilicen para fabricar tintas en escala comercial. La precipitación de los alcaloides por los taninos se usa en toxicología como antídoto en el envenenamiento por alcaloides, pues inactivan a los mismos por formar compuestos insolubles. (AGANGA A, ADOGLA – BESSA, 1999)

Los taninos son usados en medicina a causa de sus propiedades astringentes, las cuales se debe a que los taninos reaccionan con las proteínas constituyentes de la piel y mucosas, lo que se les reconoce por la sensación de sequedad y aspereza que provocan en contacto con la mucosa bucal. Cuando bajas concentraciones de taninos se aplican sobre la mucosa, únicamente la parte externa es “tanada”, se pone menos permeable y aumenta la protección de las capas profundas contra la infección bacteriana, irritación química y mecánica. Los pequeños vasos se contraen y debido a su empobrecimiento del tejido en sangre, son usados en inflamaciones de la mucosa, catarro, pequeñas



heridas. Altas concentraciones de taninos pueden producir irritaciones. (SANTOS S. C, et al., 2007)

Las propiedades antisépticas son debidas a que a altas concentraciones producen coagulación del protoplasma de los microorganismos. La preparación del tanino puro es extremadamente difícil debido a las numerosas sustancias que lo acompañan en los vegetales y a la facilidad con que se modifican por polimerización, oxidación e hidrólisis en el curso de las operaciones de extracción. En el vegetal, se les atribuyen función de protección, dado el alto poder antiséptico para prevenir germinación de hongos y crecimiento de parásitos. (YÚFERA P. 1979. SALVAT A, et al., 2004 pág. 230 - 234)

### **1.5. Animales de experimentación**

La experimentación animal se define como una actividad que tiene como misión evidenciar o aclarar fenómenos biológicos sobre especies animales determinadas. No obstante, también es toda acción de carácter científico o experimental que pueda llegar a suponer un ataque al estado de bienestar del animal, susceptible de causarle dolor, sufrimiento, angustia o agravio.

Se entiende que un experimento empieza cuando se inicia la preparación del animal para su uso y termina cuando se acaban las observaciones a realizar sobre el mismo. El uso de los animales como reactivos biológicos en el contexto de la investigación científica ha aportado numerosos beneficios. La importancia de estos usos para la humanidad está resumida por el National Research Council (EEUU). Entre otros muchos ejemplos, han contribuido de manera directa a incrementar la esperanza de vida del hombre, en la producción y validación de vacunas, en el estudio de las enfermedades, etc. En este sentido los animales actúan como modelos de diferentes enfermedades, por ejemplo en el caso de la inmunodeficiencia adquirida, el lentivirus T-linfotrópico en gato, de igual morfología, pero con diferentes antígenos que el HIV.

El uso de animales en el laboratorio en el desarrollo de investigaciones en biomedicina ha representado y representa una fuente sustanciosa de avances científicos,

especialmente biomédicos. El estudio de muchas enfermedades así como sus causas, diagnóstico y tratamiento ha sido posible, en algunos casos casi exclusivamente, gracias a la experimentación con animales.

Algunos estudios donde la experimentación animal ha sido y es trascendental pueden ser estudios sobre cáncer, cardiología, trasplantes de órganos, Síndrome de inmunodeficiencia adquirida, enfermedad de Alzheimer. (CORDOZO, C. et, al. 2007)

Para entender el uso de animales en el laboratorio debemos introducir un nuevo término. Se trata de los llamados reactivos biológicos. Dicho término se refiere a los animales usados en el laboratorio, cuyas características sanitarias y genéticas están muy bien definidas con el fin de que la variabilidad no interfiera en los resultados de las investigaciones. Se trata por lo tanto de animales estandarizados. (ZÚÑIGA, J. 2001 pág. 3 - 7).

Entre los animales que se usan para experimentación son: ratas, ratones, cobayos, conejos, primates, entre otros, estos animales son más fáciles de manipularlos, sin embargo es importante que no se abuse de aquello pues es importante saber que todos los animales sienten dolor. La importancia de su utilización debe basarse en las tres R:

**Reducir:** Se debe reducir el número de animales mediante, por ejemplo, lotes de animales lo más homogéneos posibles, obteniendo el máximo de información de cada animal o diseñando los experimentos de la forma más precisa posible.

**Refinar:** Se basa en aumentar al máximo el bienestar de los animales para así reducir el estrés y el dolor, utilizando procedimientos lo menos inofensivos y con la menor duración posible.

**Reemplazar:** Hace referencia a sustitución de los animales vivos por otros métodos que usen, por ejemplo:

- Estudios anteriores
- Modelos informáticos ya sean matemáticos (cinética ambiental, fármaco-toxicocinética) o de realidad virtual
- Técnicas fisicoquímicas
- Organismos inferiores no protegidos o embriones de vertebrados
- Cultivos de células, tejidos y órganos

- Estudios en humanos voluntarios

### **1.5.1. Estandarización de los individuos**

Como se trata de un sujeto experimental, también nace el concepto de reactivo biológico: un animal de experiencia, en función del tema de estudio, capaz de dar una respuesta fiable y reproducible. Como ya hemos expuesto en puntos anteriores, su idoneidad para el estudio debe ser vigilada, para que su uso no sea en vano y los resultados sean fiables. La pureza del animal debe ser vigilada, controlada y contrastada. No se debe olvidar que también son susceptibles a la contaminación tanto biótica como abiótica, que puede provocar un efecto distorsionador sobre los resultados del proceso experimental. Por otro lado, la posibilidad de reproducir las experiencias está limitada por su propia variabilidad, sobre esta base el empleo de animales homogéneos asegura la fiabilidad de la respuesta esperada. Así nace el concepto de “homogeneidad del reactivo biológico” y sus diferentes tipos:

- **Homogeneidad somática:** Igualdad de sexo, peso, edad. Fácil en roedores y difícil en animales grandes (carnívoros, primates, herbívoros).
- **Homogeneidad genética:** Obtenida por una tasa de consanguinidad elevada.
- **Homogeneidad sanitaria:** Tendencia a evitar posibles perturbaciones debidas a estados patológicos no deseados, que influyen en la expresión genética del animal (genotipo), condicionando a largo plazo el fenotipo y a corto plazo el estado físico.

El objetivo final es la obtención de animales “biológicamente estandarizados”, sometidos a controles constantes. A este concepto habría que añadir el de estandarización de las variables ambientales del espacio vital ocupado por el animal: temperatura, ventilación, humedad, luz y las variables de comportamiento o etología. Estos factores pueden afectar la estandarización del animal y, como consecuencia, los resultados experimentales. (MARTÍN ZÚÑIGA, J.; NORA MILOCCO, S., 2000)

## CAPÍTULO II

### PARTE EXPERIMENTAL

## 2. APLICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

### 2.1. Lugar de investigación

La presente investigación se llevó a cabo en:

- El Bioterio de la Facultad de Ciencias, en la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

### 2.2. Materiales, equipos y reactivos

#### 2.2.1. *Material vegetal*

Sangre de drago (*Croton lechleri*) proveniente del cantón Puyo, de la comunidad de Cañarí, Provincia de Pastaza a los 15 de Marzo del 2014.

Guarango (*Caesalpinia spinosa*), proveniente del cantón Riobamba provincia de Chimborazo del vivero de la facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH a los 18 de Marzo del 2014.

## **2.2.2. Animales de experimentación**

### **2.2.2.1. Ratones (*Mus musculus*)**

Los animales utilizados en este trabajo de investigación, fueron 24 ratones (*Mus musculus*) jóvenes (5-6 semanas de edad) (FOTOGRAFÍA No. 01) los cuales fueron proporcionadas por el Bioterio del laboratorio de investigación.



**FOTOGRAFÍA No. 01. RATONES ALBINOS MACHOS JÓVENES (*Mus musculus*).**

### **2.2.3. Material farmacológico**

Como control positivo para la experimentación de cicatrización se empleó LAMODERM® de laboratorios Lamosan, es una asociación corticoide- antibiótica para el tratamiento local de infecciones dermatológicas de etiología inflamatoria y/o bacteriana. El acetato de prednisolona es un dermocorticoide que en la forma micronizada como se presenta en LAMODERM, ha demostrado tener gran efecto antiinflamatorio y antialérgico sobre la piel. El sulfato de neomicina es un antibiótico de amplio espectro que no es inactivado por los exudados y no produce síntomas locales ni generales de hipersensibilidad.

Se utilizó también el ETEROL es un producto veterinario efectivo como antiséptico y cicatrizante del ombligo de los recién nacidos, escoriaciones de la piel, úlceras y heridas. También está recomendado en el tratamiento de abscesos, fistulas y mataduras. Es de uso externo y debe aplicarse sobre la superficie afectada, previa debridación limpieza hasta su completa curación.

#### **2.2.4. Equipos**

Bomba al Vacío Telstar.

Rotavapor Lyman

pHmetro HI – 2214 - 2215

Refractómetro de Abbé WYA

Estufa LSN

Desecador de vidrio. DGL

Balanza de precisión. PW 254

Cámara fotográfica

#### **2.2.5. Materiales de laboratorio**

Bandejas plásticas

Guantes estériles

Mascarillas

Papel parafina

Matraz 250 mL

Papel aluminio

Pipetas de 1 mL, 5 mL y 10 mL

Probeta 10 mL, 50 mL y 100 mL

Balones aforados 10mL, 25mL, 50mL, 100mL, 250mL

Algodón

Papel filtro

Tubos de ensayo

Vasos de precipitación 100, 250 mL.

#### **2.2.6. Reactivos**

Agua destilada

Etanol

Alcohol etílico de 90° y 40°

Acetato de etilo

Ácido sulfúrico.

Amoniacó

Oxido de Aluminio

Reactivos para tamizaje

Cloroformo

Acetona

Ácido fórmico

Sulfato de cerio

### **2.3. Factores de estudio**

Los factores de estudio en esta investigación fueron:

- Tintura hidroalcohólica por maceración de los frutos (vainas) del Guarango (*Caesalpinia spinosa*) y tintura hidroalcohólica de Sangre de drago (*Croton lechleri*).

- Evaluación de la actividad cicatrizante de las tinturas a base de Guarango, Sangre de Drago y la combinación de las dos tinturas Guarango – Sangre de Drago en diferentes proporciones

#### **2.4. Métodos físico-químicos aplicados al análisis de drogas crudas. parámetros de control de la calidad.**

Mediante el empleo de los métodos físico-químicos de análisis puede determinarse y establecerse la calidad de una droga, se utilizó las técnicas de Migdalia Miranda del 2002.

##### **2.4.1. *Determinación de cenizas totales e insolubles en ácido.***

Se utilizó el método gravimétrico. (MIGDALIA, M. 2002.)

###### *2.4.1.1. Determinación de cenizas totales*

###### *2.4.1.2. Determinación de cenizas solubles en agua*

###### *2.4.1.3. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico*

##### **2.4.2. *Determinación del contenido de humedad***

Pérdida por desecación: método gravimétrico

#### **2.5. Elaboración de tinturas**

Las tinturas fueron obtenidas por el método maceración alcohólica

##### **2.5.1. *Obtención de tintura de sangre de drago (Croton lehlery) y guarango (Caesalpinia Spinosa)***

Para la obtención de las tinturas se realizó el método de maceración.



En un recipiente de vidrio o acero inoxidable con tapa, se le añadió 100g de droga cruda con 500mL de alcohol al 40% y se mezcla bien. Se tapó el recipiente y se maceró por 7 días, agitando 15 min dos veces al día. Transcurrido el tiempo de maceración, se extrajo el líquido por decantación y el residuo se filtró por papel de filtración de velocidad moderada, se escurrió y se lavó con menstuo hasta completar el volumen de tintura establecido.

Por último se filtró y evaporó en recipiente de vidrio ámbar y se extrajo una porción para ensayos. (MIGDALIA, Miranda., 2002)

**CUADRO No 1. OBTENCIÓN DE TINTURAS POR EL MÉTODO DE MACERACIÓN.**

<b>MATERIA PRIMA</b>	<b>PESO DE MATERIA PRIMA (g)</b>	<b>ALCOHOL UTILIZADO (40%)</b>
<b>GUARANGO</b> <i>(Caesalpinia spinosa)</i>	100	500 mL
<b>SANGRE DE DRAGO (Croton lechleri)</b>	100	500 mL

Elaborado por: Pamela Allaica

## **2.6. Control de calidad de las tinturas**

El control de calidad de tinturas se basó en las NORMAS RAMALES. 1992 y MIGDALIA, M. 2002)

**2.6.1. *Determinación organoléptica de tintura***

López, T., 2002 y Norma Ramal, 1991.

**2.6.2. *Determinación del pH***

Método del pHmetro.

**2.6.3. *Determinación de índice de refracción***

Método del refractómetro.

**2.6.4. *Determinación de la densidad relativa***

Método del picnómetro.

**2.6.5. *Determinación de sólidos totales***

Método de la estufa de aire: Método gravimétrico.

**2.6.6. *Determinación del contenido alcohólico***

Método de destilación simple.

**2.7. Tamizaje fitoquímico**

El efecto biológico de las drogas vegetales depende de su composición química y de su metabolismo o capacidad biosintética.

En la actualidad, conocer la composición química general de una droga es un hecho rutinario que se apoya en técnicas de tamizaje de forma rápida de plantas medicinales. (MIGDALIA, M., 2002)

**TABLA No 2. TAMIZAJE FITOQUÍMICO**

<b>ENSAYO</b>	<b>METABOLITOS</b>
Baljet	Cumarinas
Catequinas	Catequinas
Resinas	Resinas
Ensayo de espuma	Saponinas
Cloruro férrico	Taninos y fenoles
Shinoda	Flavonoides
Antocianidinas	Antocianidinas
Dragendorff, Wagner, Mayer	Alcaloides
Liebermann Burchard	Triterpenos y esteroides
Borntrager	Quinonas
Sudan III	Aceites esenciales
Fehling	Azúcares reductores

**Fuente:** Migdalia Miranda., 2002.

## **2.8. Condiciones de la cromatografía en capa fina (flavonoides - quercetina)**

Se ha utilizado el método de cromatografía de capa fina para determinar los flavonoides presentes en las plantas usando como referencia metodológica Wagner, H., 1996 y en base a la investigación publicado por Chang Artemio 2004.

**Sistema de solventes:** Acetato de etilo - ácido fórmico – ácido acético glacial – agua (25:2,75:2,75:6.5)

**Revelador:** Sulfato de cerio y calor.

## **2.9. Análisis microbiológico**

Las placas Petrifilm CC contienen los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. El film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los Coliformes.

La ISO define los coliformes por su capacidad de crecer en medios específicos y selectivos. El método ISO 4832, que enumera los Coliformes por la técnica del recuento de colonias, define los coliformes por el tamaño de las colonias y la producción de ácido en el Agar VRB con lactosa (VRBL). En las placas Petrifilm CC, estos coliformes productores de ácido se muestran como colonias rojas con o sin gas (ver Círculo 1). El método ISO 4831, que enumera los coliformes por el método del Número Más Probable (NMP), define los coliformes por su capacidad de crecer y producir gas a partir de la lactosa en un caldo selectivo. En las placas Petrifilm CC, estos coliformes se muestran como colonias rojas asociadas a gas. (Microbiology Products Laboratoires 3M Santé)

### **Coliformes totales, aerobios totales**

1. Se tomó 3 tubos de ensayo y se colocó a cada tubo 9 mL de agua destilada.
2. Se adicionó al tubo (1) 1 mL de muestra previamente homogenizado y se agitó fuertemente.
3. Del tubo (1) se tomó 1 mL de esta solución y se en colocó en el tubo (2), y se agitó fuertemente.
4. Del tubo (2) se tomó 1 mL de esta solución y se coló en el tubo (3), y se agitó fuertemente.
5. Se tomó 1 mL del tubo (3), se levantó la película plástica de la placa Petrifilm y se colocó en el círculo de esta solución, se bajó lentamente la película plástica de la placa Petrifilm cuidando de no formar burbujas.
6. Se colocó la placa Petrifilm en la incubadora por 24 horas.
7. Se contabilizó los Coliformes, aerobios.

8. Se anotó los resultados.

## **2.10. Evaluación de la actividad cicatrizante de las tinturas. protocolo farmacológico de cicatrización: heridas inducidas. (PFC001)**

Para la actividad cicatrizante se basó en la metodología de ROBALINO, C. 2014. (ANEXO 7).

### ***2.10.1. Aclimatación***

Para evaluar la actividad cicatrizante se realizó procedimientos in vivo utilizando 24 ratones (*Mus musculus*) de 5 a 6 semanas aproximadamente y de 38.5g peso promedio.

Se los alojó en una habitación previamente esterilizada con cloro al 10 % en agua en piso y paredes en jaulas individuales, con acceso libre al alimento y al agua, bajo condiciones controladas de temperatura ( $21 \pm 2$  °C) y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad con ventilación suficiente durante 8 días. Fueron alimentados con una dieta de 3 pelets y agua clorada (agua potable + 1mL de alcohol de 70<sup>0</sup> por 10 L).

### ***2.10.2. Definición de los grupos para evaluar la actividad cicatrizante***

Para evaluar la actividad cicatrizante se utilizó 8 grupos de 3 ratones (*Mus musculus*): Grupos controles 3 y tratamientos 4, como se demuestra en la siguiente TABLA No. 03.

**TABLA No. 03. DEFINICIÓN DE LOS GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN PARA CICATRIZACIÓN.**

<b>CÓDIGO</b>	<b>GRUPO</b>	<b>TRATAMIENTO (Vía tónica)</b>	<b>NUMERO DE ANIMALES</b>
<b>SD.</b>	Grupo investigativo 1	Patología + tintura de <i>Croton lechleri</i> al 100%	3
<b>G.</b>	Grupo investigativo 2	Patología + Tintura de <i>Caesalpinia spinosa</i> al 100%	3
<b>SD1.G1.</b>	Grupo investigativo 3	Patología + <i>Croton lechleri</i> + <i>Caesalpinia spinosa</i> 50:50	3
<b>SD2.G2.</b>	Grupo investigativo 4	Patología + <i>Croton lechleri</i> + <i>Caesalpinia spinosa</i> 70:30	3
<b>C.</b>	Control positivo 1	Patología + Fàrmaco estandar (crema Lamoderm®) (acetato de prednisolona, sulfato de neomicina)	3
<b>E.</b>	Control positivo 2	Patología + Fàrmaco estandar (Eterol)	3
<b>N.</b>	Negativo	Patología	3
<b>B.</b>	Blanco	.....	3

**Realizado por:** Pamela Allaica

**SD=** Tintura de Sangre de Drago al 100%.

**G=** Tintura de Guarango al 100%

**SD1.G1.=** Tintura de Sangre de Drago y Guarango al 50%

**SD2.G2.=** Tintura de Sangre de drago y guarango a 70% y 30%.

**C=** Crema Lamoderm

**E=** Eterol

**N=** Control negativo

**B =** Blanco.

### **2.10.3. Preparación de los animales de experimentación**

1. Se realizó el pesado de los animales antes del experimento.
2. Se sujetó a los animales adecuadamente para evitar lastimarlos.
3. En el dorso de los animales se rasuró, utilizando la crema depiladora Depilex y se procedió a dejar en reposo durante 12 horas y se verificó que no exista irritación en la piel.
4. Se marcó el área de incisión en una zona en donde exista suficiente cantidad de músculo y que no permita a los animales el acceso a la herida, de forma que no interfieran en los resultados de cicatrización.
5. Se administró lidocaína solución inyectable 2% (0,5mg/Kg) para anestesarlas.
6. Con la ayuda de un bisturí esterilizado se realizó el corte de piel en la zona marcada. La escisión se realizó de aproximadamente 2 cm<sup>2</sup> de longitud y una profundidad de 3mm, llegando a la hipodermis.

### **2.10.4. Periodo de investigación**

Se dividieron aleatoriamente en 8 grupos para ser administrados tópicamente los diferentes tratamientos luego de realizarse la incisión. Durante el tiempo de investigación la administración se realizó cada 24 horas en cantidad suficiente de manera que la tintura así como los fármacos utilizados como controles positivos cubrieran la herida por completo.

### **2.10.5. Evaluación**

A las heridas realizadas en los animales de experimentación se les administró por vía tópica 100µL de tintura a cada grupo. Se compararon las heridas de los controles y de los tratamientos de cada grupo con el objetivo de encontrar la evolución de curación, considerando la longitud y ancho de la herida además del tiempo de cicatrización.

## **2.11. Evaluación histopatológica**

### ***2.11.1. Protocolo histopatológico de ratones (*Mus musculus*) a los que se les administró las tinturas (Anexo no.2)***

Se realizó la eutanasia de los ratones mediante la técnica de dislocación cervical (desnucamiento), se procedió a realizar los cortes de piel de cada uno de ellos y se los colocó en un recipiente con formol al 10%, codificado para cada ratón, posterior a aquello se realiza el análisis microscópico previo una preparación de los cortes histológicos. (MÉNDEZ, Mónica., 2008)



## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3. DEDUCCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Los resultados obtenidos que se describen en este capítulo son de las diferentes pruebas cuya metodología se detallada en el capítulo anterior, pruebas que han sido realizadas para la droga cruda de Guarango (*Caesalpinia spinosa*) y Sangre de drago (*Croton lechleri*) como para sus tinturas. Las pruebas se realizaron por triplicado y el resultado es la media de los datos obtenidos.

##### 3.1. Control de la calidad de la materia prima

En este trabajo investigativo se utilizó una droga seca de Guarango (*Caesalpinia spinosa*) y el látex Sangre de drago (*Croton lechleri*) basándose en la información de las plantas medicinales. Mediante el empleo de los métodos físico-químicos de análisis se determinó y estableció la calidad de la materia prima.

**CUADRO No. 02. CONTROL DE CALIDAD DE MATERIA PRIMA  
LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES DE LA  
FACULTAD CIENCIAS DE LA ESCUELA DE  
BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. RIOBAMBA  
MARZO 2014.**

PARÁMETROS	RESULTADOS		LÍMITE MÁX. USP#25 (2001).
	Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> )	Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> )	
Cenizas totales (%)	0.37 ± 0.011547	3.58 ± 0.05127	Hasta 12%
Cenizas insolubles en ácido (%)	0.8 ± 0.2081	0.98 ± 0.01	Hasta 5%
Humedad (%)	58.9 ± 0.530  (Ref., Guamán, 2010)	8.04 ± 0.422	8 -14%  (Muestra seca)

Elaborado por: Pamela Allaica

El porcentaje de cenizas de la especie vegetal es un indicativo del contenido total de minerales. Los resultados expresados en el CUADRO No 02 nos indican que los valores son aceptables para este tipo de muestras según la USP#25 (2001).

Estos datos obtenidos de Sangre de drago concuerdan con los estudios realizados por Artemio Chang C. en el 2004 donde se obtuvo valores de cenizas totales del látex de Sangre de drago en un rango de 0.325 a 0.682 %, observándose que el valor obtenido se encuentra dentro de este rango. (CHANG, A. 2004).

Las cenizas insolubles en ácido nos indica la presencia de arena o tierra, según el CUADRO No 02 el valor del Guarango (*Caesalpinia spinosa*) es de 0,98% y para el Sangre de drago (*Croton lechleri*) es 0.8% valor que se encuentra dentro de los límites máximos que es de 5% establecidos por la OMS (1998) y la USP # 25 2001.

El porcentaje de humedad presente en la droga seca es un indicativo del agua libre que contiene el material vegetal, un exceso de agua en la droga seca puede provocar crecimiento bacteriano lo que puede traer como consecuencia la hidrólisis de los principios activos. Al realizar el ensayo se encontró que el porcentaje de humedad del guarango (*Caesalpinia spinosa*) se encuentra dentro de los límites establecido por la USP # 25 y la Norma Ecuatoriana Fitoterápicos, incluyendo a los límites establecidos para materia prima vegetal (hasta 14%) según tesis.(ESTRADA, 2010) (USP # 25, 2001)

En cuanto al Sangre de drago (*Croton lechleri*) como se trata de un látex, tiene otras consideraciones por lo que no puede ser tratada como droga seca, sin embargo la humedad del mismo es de 58,9%, CUADRO No 02, observándose que se halla dentro de los límites establecidos según la tesis de GUAMÁN M, 2010.

### **3.2. Control de calidad de las tinturas**

Todos los preparados medicinales deben cumplir las normas de calidad y por ende el mantenimiento de estas prescripciones es una obligación legal para todos los que fabricantes de preparados farmacéuticos.

Por tanto la metodología aplicada es de acuerdo con la Farmacopea, Métodos de Análisis de Drogas y Extractos en Normas de la OMS (1998). (LONDRES BRITISH, 1964)

### 3.2.1. Características organolépticas

A las tinturas se procedió a analizar el aspecto, color, olor y sabor.

**TABLA No 04 DETERMINACIÓN DE OLOR, COLOR Y SABOR DE TINTURAS. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA ESPOCH. RIOBAMBA. MAYO 2014.**

PARÁMETROS	RESULTADOS			
	Sangre de drago ( <i>Croton lechleri</i> ) 100%	Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) 100%	Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ), + Sangre de drago ( <i>Croton lechleri</i> ) 50%:50%	Sangre de drago ( <i>Croton lechleri</i> ) + Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) 70%:30%
<b>OLOR</b>	Terroso característico	Picante característico	Característico de Sangre de drago ( <i>Croton lechleri</i> )	Característico de Sangre de drago ( <i>Croton lechleri</i> )
<b>COLOR</b>	Rojo oscuro	Café claro	Café oscuro	Vino
<b>SABOR</b>	Amargo – astringente	Amargo – astringente	Amargo – astringente	Amargo – astringente

Elaborado por: Pamela Allaica

Según la TABLA No. 04 la tintura de Guarango (*Caesalpinia spinosa*), tiene un olor picante característico, al igual que el de Sangre de drago (*Croton lechleri*), esto se debe a los componentes que poseen los mismos, principalmente por la presencia de taninos, saponinas y mucilagos.

El color que presenta la tintura de Guarango (*Caesalpinia spinosa*) es café claro, debido a sus pigmentos vegetales, mientras que la tintura de Sangre de drago (*Croton lechleri*) es de color rojo oscuro por su alto contenido de antocianos y de resinas vegetales. En lo referente al sabor las tres tinturas presentan sabor amargo – astringente, debido a la presencia de taninos.

Las propiedades organolépticas están en correspondencia con resultados obtenidos en trabajos precedentes de López, T., 2002 y Norma Ramal, 1991, por lo que se deduce que las tinturas cumplen con este requisito.

### 3.2.2. Características físico - químicas de las tinturas

**CUADRO No 03 CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICOS DE LAS TINTURAS. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. RIOBAMBA. MAYO 2014.**

PARÁMETROS	RESULTADOS			
	Sangre de drago ( <i>Croton lechleri</i> ) 100%	Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) 100%	Sangre de drago ( <i>Croton lechleri</i> ) + Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) 50%:50%	Sangre de drago ( <i>Croton lechleri</i> ) + Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) 70%:30%
<b>Ph</b>	4.48 ± .0208	3.79 ± 0.051	3.95 ± 0.198	4.07 ± 0.174
<b>Índice de refracción</b>	1.367 ± 0.003	1.372 ± 0.002	1.375 ± 0.005	1.367 ± 0.004
<b>Densidad relativa</b>	0.981 ± 0.001	0.996 ± 0.001	0.989 ± 0.001	0.993 ± 0.003
<b>Sólidos totales (%)</b>	4.7 ± 0.002	10.8 ± 0.001	8.6 ± 0.012	9.2 ± 0.034
<b>Grado alcohólico</b>	38 ± 0.023	39 ± 0.125	39 ± 0.081	37 ± 0.001

Elaborado por: Pamela Allaica

En el CUADRO No. 03. Nos indica que el pH de todas las tinturas es ácido, por lo tanto la proliferación de bacterias es menor. Además según la USP # 25, indica que el pH debe estar dentro de 4 a 7.

El pH ácido confiere a las tinturas mayor solubilidad en solventes polares por lo que favorece a la estabilidad de sus componentes entre ellos compuestos fenólicos, taninos y otros.

Con respecto al índice de refracción la tintura de Guarango (*Caesalpinia spinosa*) 100%, contiene menor cantidad de compuestos que desvían el haz de luz que pasa oblicuamente por la muestra mencionada en relación con las demás tinturas.

La densidad más elevada corresponde a la tintura de Sangre de Drago (*Croton lechleri*), debido a la consistencia que posee.

La tintura de Guarango (*Caesalpinia spinosa*) al 100% tiene mayor cantidad de sólidos totales lo que significa que posee mayor cantidad de materia seca proveniente de los taninos, resinas, sustancias gomosas que componen el guarango.

En comparación con los datos de Guamán Marco (2010) en su investigación de la tinturas, todos los valores obtenidos son similares, es así que se confirma con veracidad los resultados.

### 3.3. Tamizaje Fitoquímico

**TABLA No 5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JUNIO 2014.**

Ensayos	Tintura Sangre de drago ( <i>Croton lechleri</i> )	Tintura Guarango ( <i>Caesalpinia spinosa</i> )	Tintura 50%:50%	Tintura 70%SD: 30% G
<b>Ensayo de Sudan</b> LIPIDOS Y/O ACEITES	+	++	+++	+
<b>Ensayo de Dragendorff</b> ALCALOIDES	+++	+	++	+++
<b>Ensayo de Mayer</b> ALCALOIDES	++	+	+++	++
<b>Ensayo de Wagner</b> ALCALOIDES	++	++	+++	++
<b>Ensayo de Baljet</b> GRUPOS LACTONICOS	+	+++	++	++
<b>Ensayo de Borntrager</b> QUINONAS	+	+	++	+
<b>Ensayo de Liebermann-Burchard</b> TRITERPENOS	++	+	++	++
<b>Ensayo de resinas</b>	+	+	++	++
<b>Ensayo de Fehling</b> AZUCARES	++	++	++	++
<b>Ensayo de la espuma</b> SAPONINAS	+++	-	+	++
<b>Ensayo del cloruro férico</b> TANINOS	++	+++	++	++
<b>Ensayo de la ninhidrina</b> AMINAS	+	+	++	++
<b>Ensayo de Shinoda</b> FLAVONOIDES	++	++	+++	+++
<b>Ensayo de principios amargos y astringente</b>	+++	+++	+++	+++

Elaborado por: Pamela Allaica

(+) Baja evidencia

(++) Mediana evidencia

(+++) Alta evidencia

(-) No existe evidencia

Los resultados expresados en la TABLA No 05. del tamizaje fitoquímico nos indica que los compuestos que predominan son: taninos, flavonoides, azúcares, grasas y saponinas. Al comparar los resultados obtenidos con referencias bibliográficas se puede comprobar que las especies vegetales que forman parte de las tinturas posee taninos, flavonoides, alcaloides y saponinas en gran cantidad y en menos cantidad aminos, resinas. (PAYO, A., et. al. 2001 y GUAMÁN M. 2010).

Debido a que la presencia de taninos es evidente en las tinturas podemos decir que la actividad hemostática incrementa y el tiempo de cicatrización de las heridas disminuirá. La cicatrización se produce por la formación de costras al unirse a las proteínas con los taninos y crear un medio seco que impide el desarrollo de las bacterias. (ROBALINO, C. 2014)

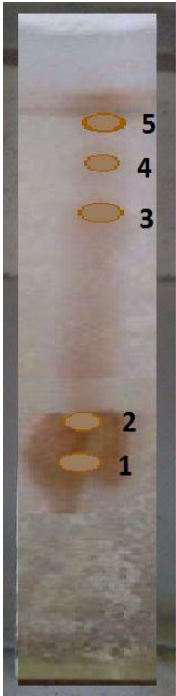
Persinos, et al. En su investigación determina que la taspina presente en el sangre de drago (*Croton lechleri*), tiene la actividad antiinflamatoria y cicatrizante, es por ello que a la taspina se la conoce como uno de los flavonoides con acción cicatrizante. (PERSINOS et al., 1979)

### **3.4. Cromatografía**

#### **3.4.1. Sangre de drago (*Croton lechleri*) (Flavonoides)**

Para la determinar la presencia de flavonoides se realizó cromatografía en capa fina (TLC), usando placas de sílica gel como fase estacionaria y como fase móvil mezcla de solventes (acetato de etilo – ácido fórmico – ácido acético glacial - agua) y la solución de sulfato de cerio como revelador. Se pudieron observar en la placa muchas manchas las cuales se presume que son flavonoides como en el siguiente. CUADRO No 04.

**CUADRO No 4 RESULTADO DE LA CROMATOGRAFÍA PARA FLAVONOIDES (QUERCETINA) DE LA TINTURA DE SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH RIOBAMBA JUNIO 2014.**

	<b>Eluyente:</b> Acetato de etilo - ácido fórmico – ácido acético glacial (100:11:11:26)			
	<b>Revelador:</b> sulfato de cerio			
	Puntos considerados	Distancia recorrida	Rf	Rf
	Eluyente	6.5 cm		
	Compuesto 1	1.30 cm	0.2	0.15 – 0.5
	Compuesto 2	2.1 cm	0.32	0.15 – 0.5
	Compuesto 3	4.25 cm	0.65	0.5 – 1
	Compuesto 4	5.3 cm	0.82	0.5 – 1
Compuesto 5	6.1 cm	0.94	0.5 – 1	
<b>Compuestos posibles:</b> Compuesto 1: quercetin – 3- O - gentiobioside Compuesto 2: quercetin – 3- O - gentiobioside Compuesto 3: quercetin – 3- O – glucoside (isoquercitrin) Compuesto 4: quercetin – 3- O – rhamnoside (rutin) Compuesto 5: quercetin – 3- O - glucoside (isoquercitrin) y quercetina.				

Elaborado por: Pamela Allaica

Para la cromatografía de utilizo lo siguiente:

**Fase móvil:** acetato de etilo – ácido fórmico – ácido acético glacial – agua (100.11:11:26) (WARGER, H., 1996)

**Fase estacionaria:** placas de silica gel 60F<sub>254</sub>

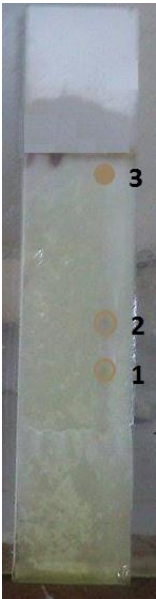
**Revelador:** Sulfato de cerio más calor.



### 3.4.2. Guarango (*Caesalpinia spinosa*) (Flavonoides - Quercetina)

Para la determinar la presencia de quercetina se realizó cromatografía en capa fina (TLC), usando placas de sílica gel como fase estacionaria y como fase móvil mezcla de solventes (acetato de etilo – ácido fórmico – ácido acético glacial - agua) y la solución de sulfato de cerio como revelador. En las placas se pudieron observar manchas las cuales se presume que son flavonoides como en el siguiente CUADRO No 05.

**CUADRO No 05 RESULTADO DE LA CROMATOGRAFÍA PARA FLAVONOIDES (QUERCETINA) DE LA TINTURA DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH RIOBAMBA JUNIO 2014.**

	<b>Eluyente:</b> Acetato de etilo - ácido fórmico – ácido acético glacial (100:11:11:26)			
	<b>Revelador:</b> sulfato de cerio			
	Puntos considerados	Distancia recorrida	Rf	Rf referencia
	Eluyente	6.4 cm		
	Compuesto 1	3.70 cm	0.57	0.45 – 0.6
	Compuesto 2	4.95 cm	0.78	0.75 – 0.8
	Compuesto 3	6.0 cm	0.94	0.8 – 1
<b>Compuestos posibles:</b>				
Compuesto 1: quercetin – 3- O – galactoside (hyperoside)				
Compuesto 2: quercetin – 3- O – rhamnoside (quercetrin)				
Compuesto 3: quercetina				

Elaborado por: Pamela Allaica

Las condiciones cromatográficas fueron:

**Fase móvil:** acetato de etilo – ácido fórmico – ácido acético glacial – agua (100.11:11:26) (WARGER, 1996)

**Fase estacionaria:** placas de sílica gel 60F<sub>254</sub>

**Revelador:** Sulfato de cerio más calor.

### 3.5. Control microbiológico

Se realizó el control microbiológico a cada una de las tinturas.

**CUADRO No 6 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO REALIZADO A LAS TINTURAS. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD CIENCIAS. ESPOCH RIOBAMBA. ABRIL 2014.**

TINTURAS	CRECIMIENTO MICROBIANO CUANTIFICADO EN UFC/g PRODUCTO Y NMP/MI		
	COLIFORMES TOTALES UFC/mL	COLIFORMES FECALES NMP/MI	REC. DE AEROBIOS MESOFILOS UCF/mL
<b>GUARANGO</b> ( <i>Caesalpinia spinosa</i> )	Ausencia	Ausencia	125
<b>SANGRE DE DRAGO</b> ( <i>Croton lechleri</i> )	Ausencia	Ausencia	35
<b>GUARANGO</b> ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) Y <b>SANGRE DE DRAGO</b> ( <i>Croton lechleri</i> ) 50%:50%	Ausencia	Ausencia	65
<b>SANGRE DE DRAGO</b> ( <i>Croton lechleri</i> ) Y <b>GUARANGO</b> ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) 70%:30%	Ausencia	Ausencia	25

Elaborado por: Pamela Allaica

En el CUADRO No. 06, se observa que las tinturas no presentan ningún tipo de crecimiento microbiano, esto debido a que es un extracto hidroalcohólico, cada una de ellas a más de tener el efecto cicatrizante poseen la actividad de anti-fúngicas, lo que lo hace idóneo para la aplicación a los animales de experimentación, además con estos resultados nos confirma que se cumple las normas de calidad de las tinturas establecidas.

### 3.6. Evaluación *in vivo*

Para la evaluación *in vivo* se realizó el pesaje de todos los animales de experimentación obteniendo resultados según el TABLA No 06.

**TABLA No 6 PROMEDIO (g) DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO 2014.**

<b>CODIGO</b>	<b>PESO EN (g)</b>
SD.	37,17
G.	40,6
SD1.G1	38,87
SD2.G2	38,27
E.	43,47
C.	39,27
N	41,23
B	38,5
<b>PROMEDIO</b>	<b>39,6725</b>

Elaborado por: Pamela Allaica

#### 3.6.1. *Actividad cicatrizante de las tinturas*

Se evaluó el tiempo total de cicatrización de heridas, medición de la cicatriz en el ancho y largo de cada tratamiento y controles.

#### 3.6.2. *Tiempo de cicatrización (días)*

El proceso de cicatrización total de la herida en los animales de experimentación ocurre en varios días en dependencia de los tratamientos y controles utilizados según como se indica en la TABLA N° 07.

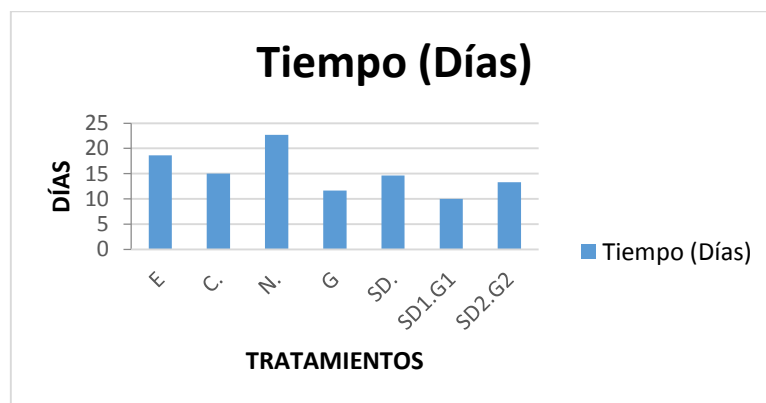
**TABLA No 7 PROMEDIO: DÍAS DE CICATRIZACIÓN EN HERIDAS DE RATONES (*Mus musculus*) OBTENIDOS DE LA APLICACIÓN DE LAS 4 TINTURAS ELABORADOS EN COMPARACIÓN CON EL ETEROL Y CREMA COMERCIAL (LAMODERM), EN EL BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO 2014.**

Grupos de tratamiento	Tiempo (Días)
E	18.66 ± 1,53
C.	15 ± 1
N.	22.66 ± 1.53
G	11.66 ± 0.57
SD.	14.66 ± 0.57
SD1.G1	10 ± 1
SD2.G2	13.33 ± 0.57

± = Desviación estándar

Elaborado por: Pamela Allaica

En la TABLA No 07, se indica la media de cicatrización que emplea los días de cada grupo de tratamientos, donde se observó que el mejor tratamiento es la tintura de Sangre de drago y guarango al 50%, dando como resultado de tiempo de cicatrización de 10 días, seguido por el tratamiento de la tintura de Guarango al 100%; tintura de Sangre de Drago y Guarango 70%:30%; tintura de sangre de drago al 100% y posterior a estos los controles positivos: crema comercial Lamoderm, solución de Eterol y finalmente el control negativo que fue el último en cicatrizar.



Cada valor esta dado como la media ± desviación estándar de las observaciones evaluadas por el Test de Anova y Test de Tukey

p<00.5

**GRÁFICO No 1 PROMEDIO DE DIAS DE CICATRIZACIÓN EN HERIDAS DE RATONES (*Mus musculus*) OBTENIDOS DE LA APLICACIÓN DE LAS 4 TINTURAS ELABORADOS EN COMPARACIÓN CON EL ETEROL Y CREMA COMERCIAL (LAMODERM), EN EL BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO 2014.**

Como se puede observar en el GRÁFICO No. 01, el tratamiento de mejor resultado es la del Guarango (*Caesalpinias spinosa*) y Sangre de drago (*Croton lechleri*) al 50%, afirmando una vez más que la mezcla de dos tinturas aumenta la actividad farmacológica.

Varios estudios publicados muestran que la actividad de sustancias aisladas es menor que la actividad de la infusión de la planta o sus extractos enteros.

Esta observación llevó a la búsqueda de otras sustancias, no necesariamente activas, que acompañan al principio activo en la planta y que aumenten su actividad farmacológica, fenómeno conocido como sinergia.

Las observaciones en las últimas dos décadas en el campo del sinergismo en plantas medicinales comprobaron el efecto de tal manera que resulta contraproducente aislar los componentes activos.

Los mecanismos identificados se pueden resumir en cuatro acciones principales:

Facilitación del transporte a través de membranas y otras barreras, inhibición de citocromos u otros factores de desactivación del principio activo mediado por el cuerpo o el agente patológico, el bloqueo de los mecanismos de resistencia multidroga –MDR de célula o del agente patológico, y modificación de funciones del cuerpo, tales como las respuestas inmunes o inflamatorias, etc. (GILBERT, B., 2012)

Según estudios realizados por *Quiroga J.C.* de la Universidad Mayor de San Simón, Facultad Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de Bolivia en el año 2004, usó el propóleo en combinación con *Aloe Vera* por sus propiedades cicatrizantes, bactericida y regeneradoras de piel, para el tratamiento de quemaduras en animales de experimentación y en personas con quemaduras de tercer grado en los cuales se evidenció una aceleración en el proceso cicatrizante respecto a los tratamientos convencionales.

Solís P. en el 2011 realizó un estudio sobre la Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de orégano (*Riganum vulgare*) y tomillo (*Thymus vulgaris l.*)

como potenciales bioconservadores en carne de pollo, en el que concluyó que el aceite de orégano, carvacol y timol son los más activos y estos trabajan juntos con efecto sinérgico para potenciar las propiedades antisépticas.

Cando en el 2007 realizó un estudio sobre el poder cicatrizante de un fitofármaco elaborado a base de Caléndula (*Caléndula officinalis*) y Propóleos, donde se llegó a la conclusión que el gel que brindó mejores resultados mediante su aplicación para las heridas causadas por castración en conejos es el gel elaborado con Propóleo y Caléndula que cicatrizó en un tiempo de 10 días; mientras que el gel de caléndula tomó 17 días y el gel de propóleo 15 días.

Todos estos estudios confirman el poder de sinergia de los vegetales, demostrándose que la mezcla de plantas puede llegar a tener un gran poder de efectividad.

**CUADRO No. 07. RESULTADO DEL PORCENTAJE DE EFICIENCIA DE LA CICATRIZACIÓN TOTAL DE LAS HERIDAS. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO 2014.**

GRUPO	MEDIA (DÍAS)	% DE EFICIENCIA DE CICATRIZACIÓN CON RELACIÓN A CONTROL NEGATIVO	% DE EFICIENCIA DE CICATRIZACIÓN CON RELACIÓN AL CONTROL POSITIVO (ETEROL).	ESTADÍSTICO.
E.	18.66	17.67		
C.	15	33.80	19.61	*
N	22.66			
G.	11.66	48.54	37.51	*
SD.	14.66	35.30	21.44	*
SD1.G1	10	55.87	46.41	*
SD2.G2	13.33	41.17	28.56	*

Realizado por: Pamela Allaica

Cada valor esta dado como la media  $\pm$  desviación estándar de las observaciones evaluadas por el Test de Anova y Test de Tukey  $p < 0.05$ .

Al analizar los datos mediante los test estadísticos Anova y Tukey, en el programa G-Start, se muestra que las diferencias en los días de cicatrización son estadísticamente significativas, la diferencia se encuentran en grupo SD1G1 que difiere con los demás grupos analizados, seguido por G, SD2G2, SD, C, E, considerándose que el de mayor tiempo en el proceso de cicatrización total de la herida es el del grupo RN. ANEXO 08.

### 3.6.3. Cicatrices al final del tratamiento

Al final del tratamiento se realizó la medida de las cicatrices de los animales de experimentación obteniendo así los siguientes resultados.

**CUADRO No 8 RESULTADOS DE CICATRICES AL FINAL DEL TRATAMIENTO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO 2014.**

<b>GRUPO</b>	<b>LARGO</b>	<b>ANCHO</b>
<b>E.</b>	1.30 ± 0.00173 *	0.28 ± 0.011 *
<b>C.</b>	1.43 ± 0.0115 *	0.23 ± 0.02 *
<b>N</b>	1.54 ± 0.0115 *	0.31 ± 0.02 *
<b>G.</b>	1.22 ± 0.02081 *	0.18 ± 0.01 *
<b>SD.</b>	1.15 ± 0.00577 *	0.14 ± 0.005 *
<b>SD1.G1</b>	0.8 ± 0.01155 *	0.05 ± 0.01 *
<b>SD2.G2.</b>	0.95 ± 0.01 *	0.09 ± 0.01 *

Cada valor está dado como la media ± desviación estándar de las observaciones evaluadas por Test Anova y Test Tukey,  $p < 0,05$

Al considerarlo frente al test estadístico de Anova y Tukey en el programa G- Stat, se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa en la longitud y en el ancho

de la herida al final de los controles positivos, control negativo y de los tratamientos. Esto se puede observar en el ANEXO 09 y 10.

La correlación que existe entre el tiempo de cicatrización final, el tamaño y ancho de la cicatriz, permite concluir que el grupo de tratamiento más efectivo es la tintura de Guarango (*Caesalpinia spinosa*) y Sangre de Drago (*Croton lechleri*).

### 3.7. Análisis histopatológico

**TABLA No 8 PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE RATONES (*Mus musculus*) DE RAZA WISTAR A LOS QUE SE LES ADMINISTRÓ TINTURAS ELABORADAS A BASE DE SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) Y GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), CONTROL POSITIVO Y NEGATIVO**

MUESTRA	EXÁMEN MACROSCÓPICO	EXÁMEN MICROSCÓPICO
E.	Tejido epitelial: espécimen de tamaño rectangular de 2.5/1.5 cm, recibido en una solución de formaldehido al 10%. En el corte se presenta una cicatriz completamente cerrada con una longitud de 1.30cm y un ancho de 0.28 cm aproximadamente.	Presencia de piel con tejido fibroso, cicatrizado, reposición del epitelio en un 100%
C.	Tejido epitelial: espécimen de tamaño rectangular de 2.5/1.5 cm, recibido en una solución de formaldehido al 10%. El corte presenta una cicatriz completamente cerrada con una longitud de 1.43cm y un ancho de 0.23 cm aproximadamente.	Presencia del 100% por ciento de tejido fibroso cicatrizado.
N	Tejido epitelial: espécimen de tamaño rectangular de 2.5/1.5 cm, recibido en una solución de formaldehido al 10%. En el corte se presenta una cicatriz completamente cerrada con un engrosamiento notable de longitud de 1.54 cm y un ancho de 0.31 cm aproximadamente.	Presencia de piel con el 60% de tejido fibroso cicatrizado.



<b>G.</b>	Tejido epitelial: espécimen de tamaño rectangular de 2.5/1.5 cm, recibido en una solución de formaldehído al 10%. En el corte se presenta una cicatriz completamente cerrada con una longitud de 1.22cm y un ancho de 0.18 cm aproximadamente.	Presencia de piel con tejido fibroso, cicatrizado, reposición del epitelio en un 100%
<b>SD.</b>	Tejido epitelial: espécimen de tamaño rectangular de 2.5/1.5 cm, recibido en una solución de formaldehído al 10%. En el corte se presenta una cicatriz completamente cerrada con una longitud de 1.15 cm y un ancho de 0.14 cm aproximadamente.	Presencia de piel con tejido fibroso, cicatrizado, reposición del epitelio en un 100%
<b>SD1.G1</b>	Tejido epitelial: espécimen de tamaño rectangular de 2.5/1.5 cm, recibido en una solución de formaldehído al 10%. En el corte se presenta una cicatriz completamente cerrada con una longitud de 0.8 cm y un ancho de 0.05 cm aproximadamente.	Presencia de piel con tejido fibroso, cicatrizado, reposición del epitelio en un 100%
<b>SD2.G2.</b>	Tejido epitelial: espécimen de tamaño rectangular de 2.5/1.5 cm, recibido en una solución de formaldehído al 10%. En el corte se presenta una cicatriz completamente cerrada con una longitud de 0.95 cm y un ancho de 0.09 cm aproximadamente.	Presencia del 100 por ciento de tejido fibroso cicatrizado.
<b>B.</b>	Tejido epitelial: espécimen de tamaño rectangular de 2.5/1.5 cm, recibido en una solución de formaldehído al 10%.	Presencia de piel con tejido fibroso, cicatrizado, reposición del epitelio en un 100%

Elaborado por: Pamela Allaica

Es necesario recordar que la cicatrización es un proceso reparativo complejo que conduce a la regeneración del epitelio y el reemplazo de la dermis por un tejido fibroso constituido por colágeno con características diferentes al normal. Las nuevas fibras son más cortas y desorganizadas, por lo que la cicatriz nunca presenta la fuerza tensora de la piel ilesa. (CEBRIAN, J. 2013)

En la TABLA N° 08. Se presentan los resultados del análisis macroscópico y microscópico de la piel de los animales la misma que fue utilizada en la comprobación de la actividad cicatrizante de las tinturas, controles positivos y control negativo. En el examen macroscópico todos los grupos experimentales presentan diferentes características sobre todo en la longitud y ancho de la herida, sobre todo en el grupo SD.1.G1. en el que es notable la diferencia de la longitud y ancho del corte inicial. Además podemos incluir que las cicatrices tenían una coloración de rosado pálido en su mayoría.

Mediante el estudio de los cortes histológicos se confirma la eficiencia de cicatrización en las heridas tratadas en los diferentes grupos, debido a que son plantas antisépticas y antiinflamatorias, actuando como una barrera que ayudan al epitelio a restituirse produciendo la cicatrización.

Los resultados de esta investigación confirman lo observado por ROBALINO, C., (2014), que evaluó el efecto antidiarreico y cicatrizante de la infusión y del extracto etanólico de *Cyclosporum leptophyllum* (pers.) *spragueen* ratones (*Mus musculus*) y conejos (*Oryctologus cuniculus*), donde indica que la infusión del extracto contribuye en la cicatrización de las heridas expuesta en los conejos, otro estudio es el realizado por CÁRDENAS J., que evaluó la actividad cicatrizante del extracto acuoso al 50% de la *Equisetum arvense* y señala que a esa concentración se promueve una cicatrización; y la bibliografía indica que los mucílagos tienen propiedades hidratadoras y protectoras de la piel, siendo también un buen protector sobre heridas, quemaduras o cortes.

## CONCLUSIONES

1. Al realizar el control de calidad de la materia prima para la elaboración de tinturas de Guarango (*Caesalpinia spinosa*) y Sangre de Drago (*Croton lechleri*) se pudo determinar que sus valores están dentro de los límites establecidos tanto por la Real Farmacopea Española 3<sup>ra</sup> edición como la USP # 25 2001.
2. Los resultados obtenidos del control de calidad de tinturas se hallan dentro de los valores preestablecidos según la Real Farmacopea Española, la USP # 25 2001, Métodos de Análisis de Drogas y Extractos de Miranda .M. (1999), Normas de la OMS (1998) y en el análisis microbiológico de Coliformes totales, fecales y aerobios mesófilos de las cuatro tinturas preparadas, se observó que no existe la presencia de microorganismos, cumpliendo con lo establecido por la Norma INEN de análisis microbiológico de tinturas.
3. Al realizar el análisis cualitativo de los componentes utilizando el método de cromatografía de capa fina (TLC) en las tinturas de Sangre de Drago (*Crotonlechleri*) y Guarango (*Caesalpiniaspinosa*), se evidenció la presencia de quercetina son las que cumplen la actividad de cicatrización.
4. La tintura elaborada con Sangre de drago (*Croton lechleri*) y Guarango (*Caesalpinia spinosa*) al 50% es la mejor pues ,cicatrizó en 10 días seguido por la tintura de Guarango al 100% que tardó 11 días, la tintura de 70%:30% de Sangre de Drago (*Croton lechleri*) y Guarango (*Caesalpinia spinosa*) respectivamente 13 días, la tintura de Sangre de Drago (*Croton lechleri*) al 100% 14 días, la crema

comercial Lamodern 15 días, el Eterol 18 días y finalmente el control negativo con suero fisiológico 22 días.

5. Con los resultados obtenidos podemos concluir que existe una notable sinergia entre las dos tinturas. Al mezclar las tinturas de Sangre de drago (*Croton lechleri*) y Guarango (*Caesalpinia spinosa*) 50%:50% y luego aplicarlo en heridas realizadas por incisión en ratones (*Mus musculus*), incrementa su actividad farmacológica.

## **RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda realizar un estudio de cicatrización de la tintura usando un vehículo parecido al del control positivo para verificar dicha actividad reduciendo el margen de error que puede ser causado por la falta de este.
2. Se recomienda realizar más pruebas de sinergia con otras tinturas definidas, con el uso de uno de las tinturas ya estudiados.
3. Se recomienda probar estas tinturas elaborando ya como un producto comercial de aplicación animal, que puede ser como: unguento o spray.
4. Para la evaluación de la actividad de cicatrización de las tinturas como producto comercial se recomienda realizar un estudio clínico para la aplicación en seres humanos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**AGANDA, A., ADOGLA - Bessa.** Taninos y digestibilidad de materia seca y proteínas de materia seca y proteínas de algunos forrajes leñosos de Boswana. (*Rev. Aran Zootec*). Vol., 48 No 181. 31 de Agosto del 1998, Pp. 79 -83.

Journal: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4115>.

2014 – 09 - 17

**AGUILAR, Cristóbal.** Técnicas, tecnologías, aprovechamiento y transformación de Sangre de Drago. México.

[http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/foros/NoMaderables/5.TECNICAS\\_Y\\_TECNOLOGIAS\\_PARA\\_APROVECHAMIENTO\\_Y\\_TRANSFORMACION\\_DE\\_SANGRE\\_DE\\_DRAGO\\_-\\_COPIA.PDF](http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/foros/NoMaderables/5.TECNICAS_Y_TECNOLOGIAS_PARA_APROVECHAMIENTO_Y_TRANSFORMACION_DE_SANGRE_DE_DRAGO_-_COPIA.PDF).

2014 – 09 -17

**ÁLVARO, J.,** Desarrollando nuestra diversidad biocultural sangre de drago y el reto de su producción sustentable en Perú. Editorial Elsa Meza. Lima -Perú. 1999. Pp. 120

**ALVIS, A., ARRAZOLA, G.,** Evaluación de la actividad y el potencial antioxidante de extractos hidro - alcohólicos de cúrcuma (*Curcum conga*). (*Información Tecnológica*) Vol 23., No 2, 2012. Pp. 11 – 18. 2012

[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-07642012000200003](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642012000200003).

2014 – 09 -17

**APONTE, J., et al.** Actividad antimicrobiana y cicatrizante de extractos de *Caesalpinia spinosa* “TARA”, Libro de resúmenes del XIX. Reunión Científica ICBAR UNMSN. Lima - Perú. 2010. Pp. 128.

**ARTECHE, Alejandro.** Medicina naturista y fitoterapia. (*Rev. Natura Medicatrix*). Vol. 95., No. 1. Lima – Perú. 2011. Pp. 5 – 9.

**ARTEMIO, Chang; KLINAR Silvia** y otros. Catálogo de plantas medicinales de ICA. Análisis fotoquímico de diez especies vegetales. XV Congreso Peruano de química. Lima - Perú. 1987. Pp. 38

**ARAUJO - MURACAMI A, ZENTENO, F.** Bosques de los andes orientales de Bolivia y las especies útiles. (*Rev. Botánica, economía de los Andes centrales*) Vol. 01., No 01. La Paz – Bolivia. 2006.

Journal: <http://www.beisa.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdf/1%20Indice.pdf>.  
2014 – 09 -17

**AVELLO, M., CISTERNA I.** Fitoterapia sus orígenes, características y situación en Chile. (*Rev Med Chile*). Vol 138., No 10. 2010, Santiago de Chile. Journal: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872010001100014](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872010001100014).  
2014 – 12 - 20

**AVILÉS, R., CARRIÓN, J., BRAVO, M. et al.** Actividad antioxidante polifenoles totales y contenido de taninos de extractos de Tara, *Caesalpinia spinosa*, (*Rev. Peruana de Química e Ingeniería química*). Vol. 13., No 2, 2010, Lima – Perú. Journal: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4588>.  
2014 – 09 -17

**BOMBARDELI, E, MARAZZOI P, GRIFFINI A.** *Aesculus Hippocastanum* L. (*Revista Fitoterapia*). Vol. 67., No 6, 1996, Milán - Italia Pp. 483 – 511.

**BARRIGA, C.** Cultivos y aprovechamiento de la Tara (*Caesalpinia spinosa*) en la Región Andina (ECONOBA). 2008, Lima - Perú. Pp. 5 – 12. E-books: <http://www.bosquesandinos.info/ECOBONA/capacitacion5criteriostara/Taraweb.pdf>  
2014 – 12 - 12

**BARRIGA, R.** Plantas útiles de la Amazonia Peruana. Características, usos y posibilidades. Editorial Libertad. 1994. Lima – Perú. Pp. 98.

**BORJA, C. y LASSO S.** Plantas nativas para la reforestación en el Ecuador. 1990 Quito – Ecuador. Pp. 20. E-books: <http://reforestation.elti.org/resource/216/>  
2014 – 12 -20

**CABELLO, I; SHIRONOSHITA, M. et al** Protocolo para el control de calidad de la Sangre de Drago (*Rev. Química PUCP*) Vol 12., No 2. 1998. Lima – Perú, Journal: <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/viewFile/5305/5301>. 1998  
2014 – 09 -17

**CAI, Y., CHEN., PHILLIPSON, J.,** Clerodane Diterpenoids from *Croton lechleri* Phytochemistry Vol. 34., No 1, 1993, Pp. 265 – 268. Journal: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-7d14e7d8-4d48-3b6e-bfa8-1f98ff49c1db>  
2014 – 11 -15

**CANDO, M.** Efecto cicatrizante de geles elaborados a base de Propóleo y caléndula en heridas de conejo (Tesis). (BQF). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador. 2007. Pp. 25 – 27.



**CAÑIGUERAL, S.** PL02, Las monografía de calidad seguridad y eficacia en el uso racional de los preparados a base de plantas medicinales. (*Rev. Fitoterapia*) Vol. 6., No S1, 2006, Pp, 25 – 29. Journal: <http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/S-CANIGUERAL.pdf>

2014 – 10 - 28

**CARO, Medrano V.** Reacciones del tejido subcutáneo a los cementos de obstrucción a base de Bálsamo de Perú y Sangre de Drago en ratones suizos. (Tesis). (Bachiller) Universidad Particular Cayetano Heredia (UPCH). Facultad de Estomatología. Lima – Perú. 1985.

**CASTILLO, Andrés y DOMÍNGUEZ Gilbert.** Evaluación de producción de Látex de Sangre de Drago (*Croton lechleri*) en función del diámetro y cuatro periodos de precipitación en poblaciones naturales de Ucayali Perú. (*Revista, Scielo*). Vol. 09., No 02, 2010. Lima - Perú. Pp. 35. Journal: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=34116957001>

2014 – 10 - 20

**CONVENTION PHARMACOPEIAL.** USP # No 25. Prepartet by the council of experts and published by the board of trustees official from January I. United States. Washington. 2005, 2001. Pp. 1568 – 1590.

**CORRALES, L; CASTILLO A y MELO A.** Evaluación del potencial antibacterial *in vitro* de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con ulceras cutáneas. Vol. 11., No 19. 2013. Cundinamarca. Pp. 5 Journal: <http://www.unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/article/view/224>.

2014 – 09 -20.

**CUBA., NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS.** NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP. Farmacognosia Y Productos Naturales., La Habana-Cuba., 1992. Pp. 57, 58, 59, 60.

**DESMARCHELIER, C. WITTING SCHAUS F. y otros.** Effects of sangre de drago from *Croton lechleri* Muell Arg. On the Production of Active Oxigen Radicals, Journal of Ethnopharmacology. Vol. 58., No 1, 1997, pp. 103 – 108. [http://www.researchgate.net/publication/13823142\\_Effects\\_of\\_Sangre\\_de\\_Drago\\_from\\_Croton\\_lechleri\\_Muell.-Arg.\\_on\\_the\\_production\\_of\\_active\\_oxygen\\_radicals](http://www.researchgate.net/publication/13823142_Effects_of_Sangre_de_Drago_from_Croton_lechleri_Muell.-Arg._on_the_production_of_active_oxygen_radicals)  
2014 – 11 -15

**DOMINGUEZ, M. GALIANO J, MARTÍNEZ F, PÉREZ J.** Manual de cirugía menor. Edición S1. España, 2002, Pp. 31 – 68. Disponible en E- Book. [http://books.google.com.ec/books?id=k6Z-d1MWRYAC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.ec/books?id=k6Z-d1MWRYAC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)  
2014 – 11 - 10

**ESTRADA, Silvia.** Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de Romero (*Rosmarinus officinalis*) y tomillo ( *Thymus vulgaris*). (Tesis) (BQF). Escuela superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba - Ecuador. 2010. 105p.

**FARMACOPEIA** Homeopática Brasileira, Edición Segunda. 1997. Pp. 366. E-books: [http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/conteudo/3a\\_edicao.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/conteudo/3a_edicao.pdf)  
2014 – 11 -20

**GARCÍA, Alonso.** Heridas: traumatismo mecánicos abiertos. 2010. Colombia. Pp. 7.

E-books:

<http://www.oc.lm.ehu.es/Fundamentos/patologia/Apoyo/cap%206%20Heridas.pdf>.

2014 -11 -20

**GARCÍA, G.** Legislación en Iberoamérica sobre fitofármacos y productos naturales.

Mildred. Primera edición. San José C.R. Editorial de la Universidad de Costa Rica.

2000. 396p. E-books:

[http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF4\\_1\\_legislacionIB.pdf](http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF4_1_legislacionIB.pdf)

2014 – 10 - 15

**GONZALES, L; LLANOS, J.** Efecto gastroprotector del extracto total de *Solanum*

*tuberosum* var. “papa blanca” y *Croton lechleri* “Sangre de Drago” en *Rattus rattus* var.

Albinos con daño gástrico por acción del etanol. Vol. 15., No 2. 2012.

**GRUPTA, M.** 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Programa YTED. Bogotá -

Colombia. 1997.

**GUAMÁN, A.** Comparación del efecto cicatrizante de tinturas elaboradas a base de

guarango (*Caesalpinia spinosa*) y sangre de drago (*Croton lechleri*) en heridas de

castración de lechones (*Sus scrofa*). (Tesis) (BQF). Escuela Superior Politécnica de

Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Ecuador 2010.

106p.

**HERNÁNDEZ, J; DELGADO G,** Terpenoids from aerial parts of *Croton Draco*,

Fitoterapia LXIII 4. (*Rev. Scielo*). Vol;1;1. 1992. Colombia. Pp. 377 – 378. Journal:

[http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442001000100024&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442001000100024&script=sci_arttext).

2014 – 12 -05

**HUARINO, Mariella.** Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival mixta (Tesis) (Cirujano Dentista). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, E.A.P. de odontología. Lima – Perú. 2011. 121p.

**ITOKWA, H., ICHIHARA Y., MOCHIZUKI M., ENOMORI T., et al.** A cytotoxic substance from Sangre de Drago. (*Rev, Chen Pharm Bull*) Vol. 39., No 4. 191. Pp. 1041 – 1042. Journal: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1893488>  
2014 – 10 - 26

**JIMÉNEZ, César, MD.** Curación avanzada de heridas. (*Rev Colombia Cir*). Vol 23 No 3. 2008. Bogotá – Colombia. Pp. 946 – 955. Journal: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2011-75822008000300004](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2011-75822008000300004)  
2014 – 10 -28

**JONES, K.** Review of Sangre de Dargo (*Croton lechleri*), a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections and wounds: traditional uses to clinical research. (*Revista J. Altern Complem. Med*). Vol 9., No 6. 2003. Pp. 877 – 896.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14736360>.  
2014 – 11 – 02.

**LEYVA, Francisco.** Heridas y cicatrización en enfermería. Servicio de cirugía plástica Hospital Universitario. Edición. MEDA PHARMA S.A. La Paz. 2012.  
<http://www.ulceras.net/monograficos/guia%20Heridas%20y%20Cicatrices%20en%20enfermeria%20OK.pdf>.  
2014 – 11 - 02.

**LONDRES BRITISH PHARMACOPEA.** Normas estándares Internacional 1968. Pp. 1264 – 1266

**LÓPEZ, A; ORÉ, Raquel, MIRANDA C, et al.,** Capacidad antioxidante de poblaciones silvestres de “Tara” (*Caesalpinia spinosa*) de las localidades de Picoy y Santa Fé (Provincia de Tarma, Departamento de Junín). (*Rev. Cient. Universidad Nacional Trujillo Scientia Agropecuaria.*) Vol 2., No. 1. 2011. Trujillo – Perú. Pp. 122.  
Journal: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/34>.  
2014 – 12 – 09

**LÓPEZ, Miriam.** “Manual de plantas medicinales para Guinea Ecuatorial”, Primera Edición, Editorial FRS. 2012. Quito – Ecuador. Pp. 50. E-books: [http://www.fundacionfrs.es/archivos/manual\\_plantas\\_medicinales\\_v2.pdf](http://www.fundacionfrs.es/archivos/manual_plantas_medicinales_v2.pdf)  
2014 – 11. - 05

**LOZANO, Zaida.** Establecimiento de un protocolo para la propagación *in vitro* de Guarango *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, a partir de plántulas como herramientas para la preservación de esta especie. (Tesis). (Ing. Biotecnología). Escuela Superior Politécnica del Ejército. Departamento de Ciencias de la vida. Sangolqui. 2011.

**MADRID.** Real Farmacopea. Norma estándar internacional. 1997. Pp. 670

**MAHABIR.** 270 Plantas medicinales Iberoamericanas. 1995. Pp. 15

**MIRANDA, M.** Folleto de métodos de análisis de droga y extractos. Instituto fe farmacia y alimentos. Habana – Cuba. Pp. 6 – 28; 36.

**MODOLIN, M.** Biología de la cicatrización de los tejidos en Melega JM, zanini SA., Psilakis JM (eDS) cirugía plástica, reparadora y estética. Río Janeiro Med. 1992. Pp. 9 – 13.

**NAVARRO, E; DÍAZ, A., GARCÍA, C, et al.** Utilidad de la fitoterapia en Atención Primaria. Trastorno gastrointestinales. (*Rev. Medifarm*) Vol.10., No 1, 2000. pp. 89 - 95. Journal: <http://www4.ujaen.es/~jggascon/Temario/Fitoterapia1.pdf>  
2014 – 12 -01

**ORTIZ, T; MENDOZA, C, CADENAS, P, et al.,** Actividad antibacteriana de la Sangre de Drago (*Croton lechleri*) frente al Helicobacter Pylori. (*Rev. Med. Hered*) Vol. 14., No 12. 2003. Pp. 15. Journal:  
<http://www.upch.edu.pe/famed/revista/index.php/RMH/article/viewFile/553/604>  
2014 – 12 - 25

**PAMO – REYNA O.** Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas. (*Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública.*) Vol 26., No 3. Lima. Journal:  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342009000300008&script=sci\\_arttext.](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342009000300008&script=sci_arttext)  
2014 – 12 – 18

**PERSINOS, Perdue G. BLOMSTER, R.N, y otros.** South American Plants II: Taspine Isolation and Anti-inflammatory Activity (*J. Pharm Sci*). Vol. 68. No 01. 1979. Colombia. Pp. 124 – 126. Journal: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/758452>  
2014 – 12 - 05

**PLANAS, Silva, MC.** Caracterización de la actividad biológica del alcaloide taspine del látex del *Croton lechleri* (Tesis). (Bachiller en Ciencias). Mención en Biología y Química. Universidad Particular Cayetano Heredia. Lima – Perú. 1984.

**PRADO y otros.** Contribución de la fonología de especies forestales nativas Andinas de Bolivia y Ecuador. Intercooperation. Quito – Ecuador. 2000. Pp.65 – 67.

**PUEBLA, P, GUERRERO M y CORREA J.** Flavonoides del género *Croton*. (*Rev Col Cien. Química Farm*), Vol 33., No 1, 2004. Perú. Pp. 77 – 85.  
<http://www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/farmacia/revista/V33N1P77-85.pdf>.

2014 – 12 – 26

**REYES.** Sangre de Drago y métodos de extracción del látex de Sangre de Drago *Croton* ssp. En el alto Napo - Ecuador. (*Rev, Ecociencia*). Vol., 03. No. 01. 1994. Napo – Ecuador. Pp. 155 – 175. Journal: [http://www.iiap.org.pe/cgi-iiap/infotext.exe/\[in=config/infotext.in\]?bdatos=bdgral&boolean=003014&rg=25&h1=1&format=completo](http://www.iiap.org.pe/cgi-iiap/infotext.exe/[in=config/infotext.in]?bdatos=bdgral&boolean=003014&rg=25&h1=1&format=completo)

2014 – 12 -06

**RISCO, Ester; ROSEL Vila et al.** Bases químicas y farmacológicas de utilización de la sangre de drago. (*Revista de fitoterapia.*). Vol. 5., No. 2. 2005. Brasil. Pp. 101 – 114. Journal: <http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/Croton.pdf>. 2014 – 11 – 19

**ROBALINO. Cristina.,** Evaluación del efecto antidiarreico y cicatrizante de la infusión y del extracto etanólico de *Cyclosporum leptophyllum* (pers.) *spragueen* ratones (*Mus musculus*) y conejos (*Oryctologus cuniculus*). (Tesis). (BQF), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba - Ecuador, 2014. Pp 124.

**ROJAS, N., AVILÉS, R., et al.,** Tratamientos de quemaduras con películas obtenidas por radiación gamma que contiene extracto hidroalcohólico de Tara (*Caesalpinia spinosa*) en animales de experimentación. (*Rev. Dermatol*) Vol 21., No 1. 2011. Lima. [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v21\\_n1/pdf/a02v21n1.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v21_n1/pdf/a02v21n1.pdf).

2014 – 12 – 26

**SALEM, C., PEREZ J; HENNING, E et al.** Heridas conceptos generales. (*Rev. Cuad. Cir.* ). Vol. 14., No. 01. 2000. Pp. 90 - 99. Journal: <http://mingaonline.uach.cl/pdf/cuadcir/v14n1/art15.pdf>.

2014 – 11 – 28

**SALVAT, A. et al.,** Antimycobial activity in methanolic extracts of several plant species from northern Argentina. (*Rev. Phytomedice*), Vol. 3 No 2, 2004, Pp 230 -234. Journal: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15070177>.

2014 – 12 - 08

**SAMANIEGO, A.,** Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante de Caléndula (*Calendula officinalis*) (Tesis). (Dr. BQF). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba Ecuador. 2006. Pp. 116.

**SANDOVAL, M, AYALA, S., ORÉ, R., et al.,** Capacidad antioxidante de la Sangre de Drago (*Croton lechleri*) sobre la mucosa gástrica en animales y experimentación. (*Rev. Fac. Med.*). Vol. 67., No 3, 2007. Lima – Perú. Pp. 199 – 205.

Journal: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v67n3/a02v67n3>.

2014 – 12 – 01.



**SANTOS, S. C. et al.,** Tannin composition of barbatimao species. (*Rev Fitoterapia*)  
Vol. 73 No 4. 2007. Pp. 292 – 299. Journal:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X02000813>.  
2014 – 12 – 12.

**SARAPIN, Nikolai,** Fundamentos de tecnología de productos Fitoterapéuticos,  
Editorial CYTED 2000. Bogotá – Colombia. Pp, 61 -70. Journal:  
[http://www.fitoterapia.net/biblioteca/biblioteca\\_ficha.php?codigo\\_libro=44&codigo\\_categoria](http://www.fitoterapia.net/biblioteca/biblioteca_ficha.php?codigo_libro=44&codigo_categoria)  
2014 – 10 - 29

**SAZ, Pablo.** Fitoterapia y medicina naturista. (Rev, Fitoterapia). Vol., 01. No. 01.  
1999, Perú. Pp. 156 – 175.  
Journal: [www.unizar.es/med\\_naturista/plantas](http://www.unizar.es/med_naturista/plantas).  
2014 – 12 -05

**VALENCIA, Carlos.** Cicatrización: Proceso de reparación Tisular. Aproximaciones  
terapéuticas. (*Rev Investigaciones Andinas*). Vol 12 No 20. 2010..  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0124-81462010000100008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0124-81462010000100008&script=sci_arttext).  
2014 – 12 – 28.

**VERDÚ, J, Bonmatia.** Estudio ALEA: Tratamiento de heridas crónicas infectadas  
mediante la aplicación de apósitos de plata nanocristalina combinados con apósitos  
hidrocelulares. (*Rev. Rol de enfermería*) Vol. 33 No 10. 2013. Pp. 646 – 654. Journal:  
<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3301391>  
2014 – 11 -25

**TAMARIZ, J., CAPCHA, R., PALOMINO, E., AGUILAR J.,** Actividad antibacteriana de Sangre de Drago (*Croton lechleri*) frente al helicobacter pylori. (*Rev. Med. Hered*) Vol. 14., No 2. 2003. Pp. 81 – 88.

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018-130X2003000200008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018-130X2003000200008&script=sci_arttext).

2014 – 11 -14

**WAGNER, H.,** Plant Drug Analysis. Segunda Edición. Munich. Germany. 1996. Spriger – Verlag. Pp. 45 – 48; 126. E-books:

[http://books.google.com.ec/books?id=8y2B\\_61iOhIC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbg\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.ec/books?id=8y2B_61iOhIC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbg_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

2014 – 12 -04

## ANEXOS

**ANEXO No 01. CONTROL DE CALIDAD DE LAS TINTURAS DE SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) Y GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. MARZO 2014**



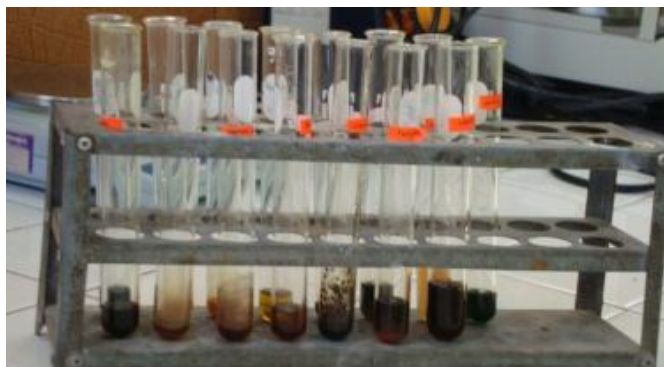
**FOTOGRAFÍA 02. CONTROL DE CALIDAD DE LAS TINTURAS DE SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) Y GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. MARZO 2014**

**ANEXO No 02. CONTROL DE CALIDAD FISICO DE TINTURAS SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) Y GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA. ESPOCH. MAYO 2014**



**FOTOGRAFÍA No 03 LECTURA DEL INDICE DE REFRACCIÓN Y pH DE TINTURAS: SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) Y GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA. ESPOCH. MAYO 2014**

**ANEXO No 3. TAMIZAJE FITOQUIMICO. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MAYO 2014**



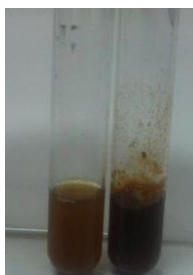
**FOTOGRAFÍA No 04 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LAS TINTURAS ALCOHÓLICO, ETÉREO Y ACUOSO DE LAS TINTURAS. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.**



**FOTOGRAFÍA No 05. PRUEBA DE SHINODA DE LAS TINTURAS. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.**



**FOTOGRAFÍA No 06. PRUEBA DE CLORURO FERRICO DE LAS TINTURAS. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.**



**FOTOGRAFÍA No 07. PRUEBA DE DRAGENDORFF DE LAS TINTURAS.  
LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES.  
FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.**



**FOTOGRAFÍA No 08. PRUEBA DE MAYER DE LAS TINTURAS.  
LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES.  
FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.**



**FOTOGRAFÍA No 09. PRUEBA DE WAGNER DE LAS TINTURAS.  
LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES.  
FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.**



**FOTOGRAFÍA No 10. PRUEBA DE ESPUMA DE LAS TINTURAS.  
LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES.  
FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.**

**ANEXO No 04. ANÁLISIS CUALITATIVO POR CROMATOGRAFIA DE FLAVONOIDES DE LAS TINTURAS EN EL LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. JUNIO 2014.**



**FOTOGRAFÍA A No 11. ANÁLISIS CUALITATIVO POR CROMATOGRAFÍA DE FLAVONOIDES DE LAS TINTURAS EN EL LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. JUNIO 2014.**



**FOTOGRAFÍA No 12. CÁMARA CROMATOGRAFICA PARA EL ANÁLISIS CUALITATIVO DE FLAVONOIDES DE LAS TINTURAS EN EL LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. JUNIO 2014.**



**FOTOGRAFÍA No 13. REVELADO CON SULFATO DE CERIO A LAS PLACAS DE CROMATOGRAFÍA EN EL LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA. ESPOCH. JUNIO 2014.**

**ANEXO No 05. MATERIALES PARA INDUCIR LA HERIDA EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014**




**FOTOGRAFÍA No 14. MATERIALES PARA INDUCIR LA HERIDA EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

**ANEXO No 06. INDUCCIÓN DE LA HERIDA A LOS RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**



**FOTOGRAFÍA 15. INDUCCIÓN DE LA HERIDA A LOS RATONES (*Mus musculus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.**

**ANEXO No 07. PROTOCOLO FARMACOLOGICO DE CICATRIZACION:  
HERIDAS INDUCIDAS (PFC001)**

	PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDAS INDUCIDAS.	<b>CODIGO: PFC 001</b>
		<b>VERSION: 01</b>
		<b>PAGINA: 1</b>

### **1. OBJETIVO**

Estandarizar el procedimiento para la evaluación de la actividad cicatrizante en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*)

### **2. ALCANCE**

Aplica en evaluaciones farmacológicas in vivo donde se evalué eficacia de la actividad cicatrizante de tinturas vegetales con relación a controles positivos.


### **3. DEFINICIONES**

**3.1.** Procedimientos in vivo.- se refiere a experimentación hecha dentro o en el tejido vivo de un organismo vivo, por oposición a uno parcial o muerto. Pruebas con animales y los ensayos clínicos son formas de investigación in vivo.

**3.2.** Inducción: *f.* Acción y efecto de inducir.

**3.3.** Heridas inducidas.- producidas por objetos cortantes con bordes nítidos, regulares y sin desgarros.



	<b>PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDAS INDUCIDAS.</b>	<b>CODIGO: PFC 001</b>
		<b>VERSION: 01</b>
		<b>PAGINA: 2</b>

#### 4. CONTENIDO DEL PROTOCOLO

##### 4.1. ACLIMATACIÓN


Para evaluar la actividad cicatrizante se realiza procedimientos in vivo en ratones (*Mus musculus*). Se los aloja adecuadamente en mallados con acceso libre al alimento y al agua, bajo condiciones controladas de temperatura ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad con ventilación suficiente durante 5 días. Alimentadas con una dieta de 30 gramos de pelets y agua de 4 mL.

##### 4.2. INDUCCIÓN DE LA PATOLOGÍA

Los animales serán pesados antes del experimento. Se realiza una incisión en el dorso del animal siguiendo las siguientes especificaciones:

- Se rasura la mitad inferior del lomo del animal.
- Se deja 5 horas o más para verificar que no existe irritación en la piel.
- Se administra lidocaína solución inyectable 2% (0,5mg/Kg) para anestesarlas y evitar el dolor en los animales.
- Se marca el área de la incisión que será en una zona donde exista cierta cantidad de musculo y que además los animales no tengan acceso a la herida de forma que no puedan interferir en los resultados de cicatrización.
- Posteriormente se marca el área de la incisión. Se realiza la incisión de aproximadamente 2 cm<sup>2</sup> y una profundidad de 0.2 cm, (se realiza con una cuchilla quirúrgica de acero inoxidable).

**TODO EL PROCESO SE REALIZARA EN CONDICIONES ASÉPTICAS**

	PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDAS INDUCIDAS.	<b>CODIGO: PFC 001</b>
		<b>VERSION: 01</b>
		<b>PAGINA: 3</b>

### 4.3. TRATAMIENTO

Se divide a los animales de experimentación en diferentes grupos:

**GRUPO 1:** lo utilizamos de control positivo con la solución de eterol, se realiza el corte y se le añadirá el control.

**GRUPO 2:** utilizamos de control positivo la crema comercial (Lamoderm®), se realiza el corte y se le administra el tratamiento.

**GRUPO 3:** a este grupo solamente se le realizara el corte en el dorso y no se administrara ningún tratamiento, denominado así como control negativo.


**GRUPO 4:** El otro grupo será el del tratamiento experimental al cual se le induce la herida y se le aplica la tintura de guarango (*Caesalpinia spinosa*)

**GRUPO 5:** se le induce la herida y se le aplicara de tratamiento a la sangre de drago (*Croton lechleri*)

**GRUPO 6:** se le realizara la herida y se aplica el tratamiento de Sangre de Drago (*Croton lechleri* y Guarango (*Caesalpinia spinosa*) 50%:50%.

**GRUPO 7:** se le realizara la herida y se aplica el tratamiento de Sangre de Drago (*Croton lechleri* y Guarango (*Caesalpinia spinosa*) 70%:30%, respectivamente.

En los controles positivos y los de tratamiento la administración de los mismos será durante el tiempo requerido para una cicatrización total.

	<b>PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDAS INDUCIDAS.</b>	<b>CODIGO: PFC 001</b>
		<b>VERSION: 01</b>
		<b>PAGINA: 4</b>


#### 4.4. EVALUACIÓN

Cuadro de recolección de datos de longitud del corte en la piel del animal al final de la cicatrización.

<b>GRUPOS</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>TOTAL</b>	<b>PROMEDIO</b>
<b>RE</b> Eterol					
<b>RC</b> Crema Lamoderm					
<b>RN</b>					
<b>RG</b> ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) 100%					
<b>RSD</b> ( <i>Croton lechleri</i> ) 100%					
<b>RSD1G1</b> ( <i>Croton lechleri</i> + <i>Caesalpinia spinosa</i> ) 50%:50%					
<b>RSD2G2</b> ( <i>Croton lechleri</i> + <i>Caesalpinia spinosa</i> ) 70 %:30%					

Cuadro de recolección de datos del ancho del corte en la piel del animal al final de la cicatrización.

<b>GRUPOS</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>TOTAL</b>	<b>PROMEDIO</b>
<b>RE</b> Eterol					
<b>RC</b> Crema Lamoderm					
<b>RN</b>					
<b>RG</b> ( <i>Caesalpinia spinosa</i> ) 100%					
<b>RSD</b> ( <i>Croton lechleri</i> ) 100%					

	PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDAS INDUCIDAS.	<b>CODIGO: PFC 001</b>
		<b>VERSION: 01</b>
		<b>PAGINA: 3</b>

<b>RSD1G1</b> <i>(Croton lechleri + Caesalpinia spinosa) 50%:50%</i>					
<b>RSD2G2</b> <i>(Croton lechleri + Caesalpinia spinosa) 70 %:30%</i>					

## 5. BIBLIOGRAFÍA

MÉNDEZ, Mónica Gabriela et al., Cirujano General., Efecto cicatrizante de la pomada preparada con *Dorstenia drakena* L. (Moraceae) en heridas cutáneas., Vol. 30 Núm. 4 – 2008., DISPONIBLE EN: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cirgen/cg-2008/cg084e.pdf>.

ROBALINO. Cristina, Evaluación del efecto antidiarreico y cicatrizante de la infusión y del extracto etanólico de *Cyclospermum leptophyllum* (pers.) *spragueen* ratones (*Mus musculus*) y conejos (*Oryctologus cuniculus*). TESIS (BQF), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Ecuador, 2014.

Adecuado por:

Dra. Susana Abdo

Tesista: Pamela Allaica

**ANEXO 08. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE.  
TIEMPO DE CICATRIZACION.**

**ANOVA UN FACTOR**

17/11/2014 06:49  
Anova Un Factor

Número de Casos: 21

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	332.9907	6	55.4984	50.7398	0.0001E-4
Dentro Grupos	15.3130	14	1.0938		
Total (corr.)	348.3037	20			

**TUKEY**

24/01/2015 18:49  
Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 21

Método: Tukey HSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
SD1.G1	3	10.0000	X
G	3	11.6600	XX
SD2.G2	3	13.3300	XX
SD	3	14.6600	X
C	3	15.0000	X
E	3	18.6600	X
N	3	22.6600	X

Contraste	Diferencia	+/- Límite
E VS C	*3.6600	*2.9159
E VS N	*-4.0000	*2.9159
E VS G	*7.0000	*2.9159
E VS SD	*4.0000	*2.9159
E VS SD1.G1	*8.6600	*2.9159
E VS SD2.G2	*5.3300	*2.9159
C VS N	*-7.6600	*2.9159
C VS G	*3.3400	*2.9159
C VS SD	0.3400	2.9159
C VS SD1.G1	*5.0000	*2.9159
C VS SD2.G2	1.6700	2.9159
N VS G	*11.0000	*2.9159
N VS SD	*8.0000	*2.9159
N VS SD1.G1	*12.6600	*2.9159
N VS SD2.G2	*9.3300	*2.9159
G VS SD	*-3.0000	*2.9159
G VS SD1.G1	1.6600	2.9159
G VS SD2.G2	-1.6700	2.9159
SD VS SD1.G1	*4.6600	*2.9159
SD VS SD2.G2	1.3300	2.9159
SD1.G1 VS SD2.G2	*-3.3300	*2.9159

\* Diferencia estadísticamente significativa.

## ANEXO No. 09 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA LONGITUD DE LA CICATRIZ AL FINAL DEL TRATAMIENTO

### ANOVA UN FACTOR

24/01/2015 18:58

Anova Un Factor

Número de Casos: 21

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	1.2178	6	0.2030	1126.5600	0.0006E-14
Dentro Grupos	0.0025	14	0.0002		
Total (corr.)	1.2203	20			

## TUKEY

24/01/2015 19:00

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 21

Método: Tukey HSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
SD1.G1	3	0.8030	X
SD2.G2	3	0.9500	X
SD	3	1.1530	X
G	3	1.2166	X
E	3	1.3000	X
C	3	1.4360	X
N	3	1.5430	X

Contraste	Diferencia	+/- Límite
E VS C	*-0.1360	*0.0374
E VS N	*-0.2430	*0.0374
E VS G	*0.0834	*0.0374
E VS SD	*0.1470	*0.0374
E VS SD1.G1	*0.4970	*0.0374
E VS SD2.G2	*0.3500	*0.0374
C VS N	*-0.1070	*0.0374
C VS G	*0.2194	*0.0374
C VS SD	*0.2830	*0.0374
C VS SD1.G1	*0.6330	*0.0374
C VS SD2.G2	*0.4860	*0.0374
N VS G	*0.3264	*0.0374
N VS SD	*0.3900	*0.0374
N VS SD1.G1	*0.7400	*0.0374
N VS SD2.G2	*0.5930	*0.0374
G VS SD	*0.0636	*0.0374
G VS SD1.G1	*0.4136	*0.0374
G VS SD2.G2	*0.2666	*0.0374
SD VS SD1.G1	*0.3500	*0.0374
SD VS SD2.G2	*0.2030	*0.0374
SD1.G1 VS SD2.G2	*-0.1470	*0.0374

\* Diferencia estadísticamente significativa.

**ANEXO No. 10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ANCHO DE LA CICATRIZ AL  
FINAL DEL TRATAMIENTO**

**ANOVA UN FACTOR**

24/01/2015 19:08  
Anova Un Factor

Número de Casos: 21

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	0.1696	6	0.0283	157.3808	0.0005E-8
Dentro Grupos	0.0025	14	0.0002		
Total (corr.)	0.1721	20			

**TUKEY**

24/01/2015 19:10  
Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 21

Método: Tukey HSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
SD1.G1	3	0.0500	X
SD2.G2	3	0.0900	X
SD	3	0.1400	X
G	3	0.1800	X
C	3	0.2300	X
E	3	0.2830	X
N	3	0.3100	X



Contraste	Diferencia	+/- Límite
E VS C	*0.0530	*0.0374
E VS N	-0.0270	0.0374
E VS G	*0.1030	*0.0374
E VS SD	*0.1430	*0.0374
E VS SD1.G1	*0.2330	*0.0374
E VS SD2.G2	*0.1930	*0.0374
C VS N	*-0.0800	*0.0374
C VS G	*0.0500	*0.0374
C VS SD	*0.0900	*0.0374
C VS SD1.G1	*0.1800	*0.0374
C VS SD2.G2	*0.1400	*0.0374
N VS G	*0.1300	*0.0374
N VS SD	*0.1700	*0.0374
N VS SD1.G1	*0.2600	*0.0374
N VS SD2.G2	*0.2200	*0.0374
G VS SD	*0.0400	*0.0374
G VS SD1.G1	*0.1300	*0.0374
G VS SD2.G2	*0.0900	*0.0374
SD VS SD1.G1	*0.0900	*0.0374
SD VS SD2.G2	*0.0500	*0.0374
SD1.G1 VS SD2.G2	*-0.0400	*0.0374

\* Diferencia estadísticamente significativa.