



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE HIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

**“COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL
EXTRACTO DE HIERBA MOSQUERA (*Croton elegans kunth*) EN
RATONES (*Mus musculus*)”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACEÚTICA

AUTORA: CRISTINA ELIZABETH TIGSE MOPOSITA

TUTORA: DRA. ELIZABETH ESCUDERO

RIOBAMBA - ECUADOR

2015

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

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación “**COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO DE HIERBA MOSQUERA (*Croton elegans kunth*) EN RATONES (*Mus musculus*)**” de responsabilidad de la señorita egresada Cristina Elizabeth Tigse Moposita, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Elizabeth Escudero
DIRECTOR DE TESIS

Bqf. Cecilia Toaquiza
MIEMBRO DE TRIBUNAL

DOCUMENTALISTA
SISBIB ESPOCH

Yo, **Cristina Elizabeth Tigse Moposita**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en el Trabajo de Titulación; y el patrimonio intelectual de Trabajo de Titulación, Pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

CRISTINA ELIZABETH TIGSE MOPOSITA

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo y/o posteriores está dedicado a Dios quien me brindado una madre llena de principios y virtudes, la cual supo encaminar mis expectativas de superación académica y personal, con su esfuerzo diario, amor, apoyo incondicional, esto me dio la fortaleza de seguir adelante y culminar con éxito una de mis metas planteadas, como es la obtención del título profesional de tercer nivel.

A mis profesores tanto de instrucción primaria, superior, y de tercer nivel que aportaron conocimientos fundamentales para el desarrollo de mi carrera y trabajo investigativo propuesto.

A mis tutores y coordinadores que pulieron mi trabajo investigativo, con sus vástagos conocimientos.

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo investigativo es posible gracias a la colaboración de mi madre María Fabiola Moposita Saquina quien con su ejemplo de superación personal, supo aportar su incondicional amor, comprensión, y recursos económicos para la culminación de mi carrera y posterior trabajo investigativo propuesto sin dejar de lado a mi familia hermana y hermanos.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en especial a la Escuela de Bioquímica y Farmacia, quien me acogió en sus aulas para mi instrucción profesional.. Al igual que mi tutora de tesis Dra. Elizabeth Escudero y colaboradora Bqf. Celicia Toaquiza, quienes colaboraron con la elaboración y culminación de mi proyecto investigativo. A todas aquellas personas y amistades quienes ayudaron con su compañía y ánimos brindados en el transcurso de la realización de la tesis.

Cristina

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xiv
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	xv
RESUMEN	xviii
SUMARY	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	2
1. MARCO TEÓRICO	2
1.1. Medicina Tradicional	2
1.2. Medicamentos Herbarios	2
1.3. La Piel	2
1.3.1. <i>Estructura de la piel</i>	3
1.3.1.1. <i>Epidermis</i>	3
1.3.1.2. <i>Dermis</i>	4
1.3.1.3. <i>Hipodermis</i>	5
1.4. Cicatrización	5
1.4.1. <i>Células que interviene en el proceso de la cicatrización</i>	6
1.4.2. <i>Actividad cicatrizante</i>	6
1.4.3. <i>Fisiología de la cicatrización</i>	6
1.4.3.1. <i>Fase inflamatoria/exudativa</i>	6
1.4.3.2. <i>Fase proliferativa</i>	12
1.4.3.3. <i>Fase de diferenciación y reconstitución.</i>	14
1.4.4. <i>Factores que contribuyen a la cicatrización</i>	15
1.4.5. <i>Tipos de cicatrización</i>	16
1.5. Herida	17
1.5.1. <i>Tipos de heridas</i>	17
1.6. Definición de extractos	18

1.6.1.	<i>Clasificación de extractos</i>	18
1.7.	Maceración	18
1.8.	Productos del grupo control	19
1.8.1.	<i>Eterol</i>	19
1.8.2.	<i>Crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina.</i>	19
1.9.	Ratón (<i>Mus Musculus</i>)	20
2.	Hierba Mosquera(<i>Croton elegans kunth</i>)	21
2.1.	Propiedades farmacológicas	22
2.2.	Investigación Fitoquímica	23
2.2.1.	<i>Alcaloides</i>	23
2.2.2	<i>Flavonoides</i>	24
2.2.3.	<i>Taninos</i>	25
2.2.4..	<i>Esteroles</i>	26
CAPITULO II		27
2.	MARCO METODOLOGICO	27
2.1.	Lugar de investigación	27
2.2.	Materiales, equipos y reactivos	27
2.2.1	<i>Materia prima</i>	27
2.2.2.	<i>Reactivo biológico</i>	27
2.2.3	<i>Equipos materiales y reactivos para el análisis de la Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>).</i>	28
2.3	Métodos y técnicas	30
2.3.1	<i>Recolección del material vegetal</i>	30
2.3.2.	<i>Obtención de los extractos para evaluación cicatrizante de Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)</i>	31
2.3.3.	<i>Control de calidad de la materia prima Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)</i>	32
2.3.4	<i>Parámetros de calidad cualitativo (Tamizaje Fitoquímico)</i>	32
2.3.5	<i>Parámetros de calidad del extracto etanólico</i>	32
2.3.6.	<i>Análisis microbiológico</i>	33
2.4.	Análisis cromatográfico	33
2.4.1.	<i>Análisis cromatográfico para flavonoides</i>	34
2.5	Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales expresado	34

	como porcentaje de Rutina	
2.6	Cuantificación espectrofotométrica de compuestos Fenólicos (Micrométodo de Folin-Ciocalteu)	34
2.6.1.	<i>Determinación colorimétrica de Taninos expresados como Acido Tánico por el Método De Folin –Ciocalteu.</i>	35
2.7	Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)	36
2.7.1	<i>Etapa 1: Período de ambientación</i>	36
2.7.2	<i>Etapa 2: Modelo experimental</i>	36
2.7.3	<i>Etapa 3: Producción de las Heridas en los dorsos de los ratones</i>	37
2.7.4	<i>Etapa 4: Tratamiento</i>	38
2.8	Examen Histopatológico	38
	CAPITULO III	39
3.	MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	39
3.1.	Control de calidad de la droga cruda o materia prima	39
3.2.	Tamizaje Fitoquímico de los extractos.	40
3.3	Control de calidad del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)	41
3.3.1	<i>Determinación de requisitos organolépticos del extracto hidroalcohólico</i>	41
3.3.2	<i>Determinación de los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico.</i>	42
3.3.3.	<i>Análisis microbiológico</i>	42
3.4	Análisis cromatográfico	43
3.5	Cuantificación de flavonoides totales (Método del AICI3)	44
3.6	Cuantificación de compuestos Fenólicos (Micrométodo de Folin-Ciocalteu)	44
3.7	Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de la Hierba Mosquera (<i>Croton elegans Kunk</i>). En ratones (<i>Mus Musculus</i>)	45
3.7.1.	<i>Reducción de tiempo de cicatrización</i>	46
3.7.2.	<i>Longitud de cicatrización de cada grupo.</i>	47
3.8	Análisis estadístico	49
3.8.1	<i>ANOVA de un factor para los días de cicatrización</i>	49
3.8.2.	<i>Test de Tukey</i>	49

3.9	Análisis Histopatológico de las pieles de los animales de Experimentación	50
	CONCLUSIONES	52
	RECOMENDACIONES	53
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Ac.	Ácido
cm.	Centímetros
g.	Gramos
Kg.	Kilogramos
mg.	Miligramos
mL.	Mililitro
mm.	Milímetros
pH	Potencial de Hidrogeno
Ppm	Partes por millón
Rf	Factor de retención
T	Temperatura
TLC	Cromatografía en capa fina
UV	Ultravioleta
°C	Centígrados
uL	Microlitros
%	Porcentaje
GCN	Grupo Control Negativo, heridas sin tratamiento
GCL	Grupo Control Positivo, aplicación de la Crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina.
GCE	Grupo Control Positivo, aplicación del eterol.
GEC1	Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 20%
GEC2	Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 40%
GEC3	Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 80%

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°2-1.	Diseño experimental para el Análisis del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)	35
Cuadro N°3-2	Resultados de control de calidad de la droga cruda Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>),	37
Cuadro N°3-3	Resultados de análisis cualitativo (Tamizaje Fitoquímico) de la Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>).	38
Cuadro N°3-4	Determinación de los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)	39
Cuadro N°3-5	Identificación de microorganismo	40
Cuadro N° 3-6	Análisis de los Rf de la cromatografía en papel cromatográfico del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>).	41
Cuadro N° 3-7	Determinación de la concentración de flavonoides totales anunciados en ug del estándar Rutina/g, en el extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>).	41
Cuadro N°3-8	Determinación de la concentración de compuestos fenólicos totales expresados en µg de ácido Gálico/g de muestras en el extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>).	42
Cuadro N°3-9	Determinación de la concentración de compuestos Tánicos totales expresados en µg de ácido Tánico/g de muestras en el extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)	43
Cuadro N°3-10	Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunk</i>), evaluada mediante la media de cicatrización y longitud.	43
Cuadro N°3-11	Reducción en porcentaje de los tiempos de cicatrización de cada grupo.	44
Cuadro N°3-12	Longitud de cicatrización de cada grupo	45
Cuadro N°3-13	Análisis estadístico de los resultados con respecto a los días de cicatrización.	46
Cuadro N°3-14	Análisis estadístico de los resultados con respecto a los días de cicatrización con la aplicación del Test de Tukey.	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°2-1.	Equipos y material biológico usados en la investigación	26
Tabla N°2-2.	Materiales de laboratorio usados en la investigación.	26
Tabla N°2-3.	Reactivos de laboratorio usados en la investigación.	27
Tabla N°2-4.	Tamizaje fitoquímico de la Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)	30
Tabla N°3-5.	Análisis organoléptica del extracto Hidroalcohólico de Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)	39
Tabla N°3-6	Análisis macroscópico	48
Tabla N° 3-7	Análisis microscópico	49

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafica N°3-1	Cicatrización Vs Días	44
Grafica N°3-2	Cicatrización Vs Longitud de la herida	45

ÍNDICE FIGURAS

Figura N° 1-1	Estructura fisiológica de la piel	3
Figura N° 1-2	Fase de Coagulación	7
Figura N°1- 3	Inflamación Temprana	10
Figura N° 1-4	Fase de Maduración	12
Figura N°1- 5	Fases de cicatrización	14
Figura: N°1-6	Crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina.	18
Figura N°1-7	Ratón	18
Figura N° 1-8	Aspectos biogénéticos para la clasificación de los alcaloides	22
Figura N°1- 9	Origen Biosintético	24
Figura N°1-10	Estructura base de un esteroide	24
Figura N°1-11	Esquema del tratamiento de la Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)	29
Figura N°1-12	Esquema para la elaboración del extracto madre de la Hierba Mosquera (<i>Croton elegans kunth</i>)	29

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

- Fotografía N° 1** Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)
- Fotografía N° 2** Cantón Picaigua lugar de procedencia de la muestras Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)
- Fotografía N° 3** Hábitat de la Hierba Mosquera(*Cronton elegans kunth*)
- Fotografía N° 4** Muestras seca de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)
- Fotografía N° 5** Triturado de la Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)
- Fotografía N° 6** Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*) fraccionada
- Fotografía N° 7** Extractos de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)
- Fotografía N° 8** Extracto alcohólico de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)
- Fotografía N° 9** Extracto etéreo de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)
- Fotografía N°10** Extracto acuoso de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)
- Fotografía N°11** Determinación de Ph
- Fotografía N°12** Determinación Índice de refracción
- Fotografía N°13** Determinación de Densidad
- Fotografía N°14** Determinación de Solidos Totales
- Materiales para el análisis microbiológico de los extractos(placas pretri fiells y
- Fotografía N°15** placas de agar
- Fotografía N° 16** Siembra de las muestras(control positivo y control negativo)
- Fotografía N° 17** Resultados de la incubación de los extracto
- Fotografía N° 18** Cromatografías del extracto madre
- Fotografía N° 19** Materiales para la inducción de la herida en los animales de experimentación
- Fotografía N° 20** Depilación del pelaje
- Fotografía N° 21** Herida del dorso del ratón (*mus musculus*)
- Fotografía N° 22** Cicatrización total
- Fotografía N° 23** Eutanasia del ratón
- Fotografía N° 24** Disección de la piel
- Fotografía N° 25** Muestras en formol
- Fotografía N° 26** Placas histológicas
- Fotografía N° 27** Muestra extracto hidroalcohólico al 80%
- Fotografía N° 28** Muestra extracto hidroalcohólico al 40%
- Fotografía N° 29** Muestra extracto hidroalcohólico al 20%

- Fotografía N° 30** Muestra control negativo
Muestra Crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina.
- Fotografía N° 31** (control positivo)
- Fotografía N° 32** Muestra eterol (control positivo)

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A	Identificación de la planta en el herbario de la ESPOCH
ANEXO B	Mapa de la provincia del Tungurahua
ANEXO C	Tratamiento de la muestras Hierba Mosquera (<i>Cronton elegans kunth</i>)
ANEXO D	Tamizaje fitoquímico de Hierba Mosquera (<i>Cronton elegans kunth</i>)
ANEXO E	Determinación de parámetros físicos del extracto hidroalcohólico Hierba Mosquera (<i>Cronton elegans kunth</i>)
ANEXO F	Cuantificación de flavonoides con respecto al estándar Rutina
ANEXO G	Cuantificación de compuestos fenólicos
ANEXO H	Cuantificación de flavonoides con respecto al ácido Tánico
ANEXO I	Análisis microbiológico de los extractos
ANEXO J	Placa cromatografía
ANEXO K	Actividad Cicatrizante
ANEXO L	Análisis histológico

RESUMEN

La investigación realizada se fundamenta en la comprobación de la actividad cicatrizante de la Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*) en ratones (*mus musculus*), en el Biotério de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, encaminada a conocer las bondades que brindan las plantas del Ecuador poco conocidas para dar una buena aplicabilidad en el ámbito medicinal, quedando un pauta para la elaboración de Fitomedicamentos en posteriores investigaciones. Por medio del tamizaje fitoquímico se identificó la presencia de metabolitos secundarios que dan la actividad cicatrizando como es los flavonoides, fenoles y taninos. Mediante pruebas físicas y químicas de los extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones al 20%,40%,80% de la Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*) se determinó su calidad tanto en pH que va de 6,96- 7,13, índice de refracción 1,0159-1,0508 ,densidad relativa 0,99- 1,00,solidos totales 3,39-3,89. Control microbiológico presenta ausencia tanto en coliformes totales, mohos y levaduras. La comprobación del actividad cicatrizante se utilizó 18 ratones divididos en grupos de tres; tres ratones (*mus musculus*) para control positivo, tres ratones (*mus musculus*) control negativo, y tres ratones (*mus musculus*) para la investigación en sí, los cuales fueron sometidos a heridas en el dorso de 2cm de longitud, seguidamente se les aplico los diferentes tratamientos, para verificar la efectividad del tratamiento mediante el tiempo de cicatrización y la reducción de la herida, los resultados fueron tabulados con los test de ANOVA y Tukey, con nivel de confianza 0,5%, es decir que al menos dos de los tratamientos tienen diferencia de cicatrización con respecto a los días. Los resultados se fundamentaron en el análisis histopatológico que revela el porcentaje de regeneración de células epiteliales. Se concluye que el extracto que actuó de mejor manera en menos tiempo fue el extracto hidroalcohólico al 80%. Recomendando posteriores investigación den una forma farmacéutica para poder industrializar un nuevo producto medicinal.

Palabras claves: <CONTROL DE CALIDAD><EFICACIA><HIERBA MOSQUERA [*Cronton elegans kunth*]><EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO ><COMPROBACION CICATRIZANTE><METABOLITOS SECUNDARIOS>< RATONES [*mus musculus*] >

ABSTRACT

The current is based on the healing activity of the Mosquera Herb (*Croton elegans kunth*), in the Bioterium of Sciences Collage of Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, routed to know the goodness that give the plants from Ecuador few know in order to give a good applicability in the medicinal area, establishing a patter for the elaboration of phyto- medicaments in next researche. Through the phytochemical screening the presence of secondary metabolites was identified like the flavonoids, phenols and tannins that area capable to heal. Through physic and chemical tests of the hydroalcoholic extracts to different concentrtrions to 20%, 40%, 80% of Mosquera Herb (*Croton elegans kunth*) its quality was determined in pH from 6,97 – 7,13, refractive index 1,0159 – 1,0580, relative desity 0,99 – 1,00, total sollids 3,39 – 3,89. Microbiological control presents absence in total coliforms moulds and yeasts. The verification of healing activity was used in 18 mice divided in groups of three, three mice (*mus musculus*) for positive control, three mice (*mus musculus*) for negative control and three mice (*mus musculus*) for the research per se, which were subjected to hurts in back of 2 centimeres length, then the different treatments were applied, to identify the treatment effectiveness through heling time and the reduction of hurt, the results with ANOVA and Tukey tests were tabulated, with trust level of 0,5%, that means that at least two of the treatments have healing difference respect to days. The results were based on the histopathological analysis that reveals the regeneration percentage of epithelial cells. It is concluded that the extract acted of better way was the hydro-alcoholic extract to 80%. It is recommended that next researches give a pharmaceutical way in order to industrialize a new medicinal product.

KEY WORDS :<Quality control><Effectiveness><Mosquera Herb [*Croton elegans kunth*]><Hydri-alcoholic extract><Healing Verification><Secondary metabolites><Mice [*mus musculus*]>

INTRODUCCIÓN

Las plantas que se encuentran en nuestro país propias o introducidas forman una parte fundamental en las comunidades tanto campesinas como para la ciencia investigativa, según la Revista Tecnológica ESPOL(2010), data que el 80% de la población ecuatoriana consume medicina tradicional, para la atención primaria de la salud y bienestar. (ESPOL, Revista Tecnológica). Por ello se dice que el Ecuador la tiene la factibilidad de aplicar medicación tradicional, por lo cual la utilización de plantas medicinales está ampliamente distribuida en el país.

Es por ello que es factible la investigación acerca de plantas que contenga algún o varios principios activos aún no son comprobados. Como es el caso de la Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*), que se la utiliza para el tratamiento de úlceras gástricas y cancerosas, inflamaciones vaginales, para curar la amigdalitis y la angina, antiviral, antiinflamatorio, antibacteriano, induce a la evacuación intestinal entre otras. Por la gran cantidad de beneficios que presenta la planta antes mencionada es factible la comprobación de la actividad cicatrizante que posee ya que la mayoría se la utiliza para la cicatrización de heridas en general.

La OMS en los años 1975, da la adecuada importancia a la medicina tradicional, tomando medidas de prevención en países en vías de desarrollo para prevenir posibles efectos adversos por uso o abuso de los mismos.

Las heridas que se producen en cualquier situación de la vida tanto en el trabajo como en el diario vivir, las mismas que se pudieron provocar por una simple hoja de papel bond, hasta con un utensilio de cocina como es el caso de un cuchillo. Esto encamina la búsqueda de nuevas opciones de agentes que ayuden a una pronta cicatrización de heridas menores.

El presente estudio propone la investigación de la comprobación del principio activo que le da la actividad cicatrizante de la Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*), y posteriormente se dejaría propuesto la elaboración de un fitofármaco en una siguiente investigación, con el objetivo de mejorar la salud, mediante la aplicación de esta planta como nueva alternativa más aun cuando presenta un sin número de propiedades curativas que va acelerar la cicatrización de heridas menores. (OMS, Organización Mundial de la Salud, 2015)

CAPITULO I

1. MARCO TEORICO

1.1. Medicina Tradicional

La medicina tradicional es todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en suposiciones, dogmas y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el sostén de la salud, así como para la prevención, el análisis, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas y mentales. (OMS, 2015).

1.2. Medicamentos Herbarios

Son preparaciones herbarias y productos herbarios acabados, que contienen como principios activos partes de plantas, u otros materiales vegetales, o mezclas de esos elementos. (OMS, 2015)

Preparaciones herbarias: *es la base de los productos herbarios acabados y pueden componerse de materiales herbarios triturados o pulverizados, o extractos, tinturas y aceites grasos de materiales herbarios. Se producen por extracción, segmentación, lavado, concentración y otros procesos biológicos o físicos. También comprenden preparaciones obtenidas macerando o calentando materiales herbarios en bebidas alcohólicas o miel o en otros materiales. (OMS, 2015)*

1.3. La Piel

La piel el órgano más grande del ser humano con aproximadamente una superficie de 1,5 a 2 m² y data el 16% del peso corporal en relación a un adulto. Su dimensión depende al lugar donde se encuentre como es el caso de mejillas lisas con comparación con la palma de las manos que tiene mayor grosor, siendo la piel un órgano que presta varias funciones en beneficio para el cuerpo humano en tanto a actividades fisiológicas como el control de la homeostasis entre otras funciones . (Geffner,2005,p.230)

1.3.1. Estructura de la piel

Se puede diferenciar como una envoltura completa sin soluciones de continuidad, puesto que en los orificios naturales del organismo que esta presenta, se denominan mucosas. Variedad de funciones y objetivos que cumple la piel, entre la menos conocida son las relaciones de exteriorización de las emociones que demuestra la piel como, sonrojo, palidez, irisación de la piel, emanación de olor. (Merino, 2013, pp.222-227)

Se puede diferenciar desde adentro hacia fuera tres capas de tejido correspondientes a las capas embrionarias cuales son:

- 1.- Epidermis
- 2.- Corion o Dermis
- 3.- Tejido subcutáneo o hipodermis

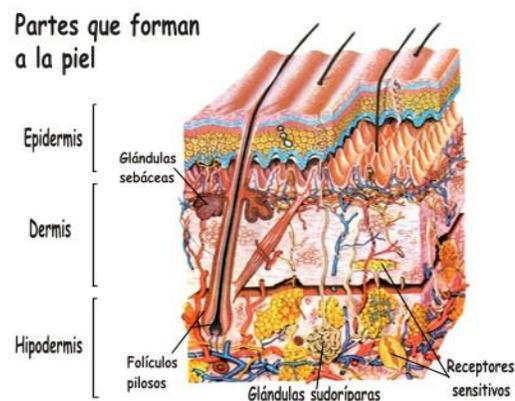


Figura N° 1-1 Estructura fisiológica de la piel

Fuente: <http://www.cuidadodelasalud.com/salud/partes-de-la-piel-y-sus-funciones/>

1.3.1.1. Epidermis

Es un epitelio plano poliestratificado y queratinizado que cubre toda la superficie del cuerpo, posee características como el recambio por el sin número de células presentes. Se caracteriza por tener cuatro capas tomando en cuenta desde el exterior hacia el interior. Estas son:

- ✓ Capa cornea
- ✓ Capa granular
- ✓ Capa de células espinosas
- ✓ Capa basal

Características:

- ✓ Protección contra agentes exógeno
- ✓ Proporciona restauración y regeneración de la piel cada 2-3 semanas.

Funciones:

1. Previene la desecación
2. Protección bacteriana
3. Barrera contra toxinas
4. Balance de entrada y pérdida de fluidos
5. Función neuro- sensorial
6. Interacción social

1.3.1.2. Dermis

Viene a ser la estructura de soporte de la piel siendo un tejido vascularizado, con resistencia y elasticidad constituidas con gran número de fibras, colágeno, elastina y retícula. (Wolff, 2009. pp. 57).

Se divide según la histología en:

- ✓ Capa papilar
- ✓ Capa reticular

Características:

- ✓ Durabilidad y flexibilidad
- ✓ Requerimientos para reparo
- ✓ Camino para migración y nutrientes

Funciones:

- ✓ Protección contra los golpes
- ✓ Regulación del flujo sanguíneo
- ✓ Suplencia cutánea
- ✓ Termorregulación

Anexos de la piel (Wolff, 2009. p. 57)

- ✓ Pelo
- ✓ Glándulas sebáceas
- ✓ Glándulas sudoríparas
- ✓ Uñas

1.3.1.3. Hipodermis

Al igual que la dermis no tiene un límite definido esta se integra con la capa del tejido subcutáneo, constituida por tejido conectivo laxo, fibras que eventualmente se adhieren a la dermis formándose la estructura subyacente , manteniendo firme la piel caso contrario se formara plegamientos. Es un caso práctico observar la pile de palma , planta de pies cuero cabelludo es casi inmóvil, es por ello que el espesor de esta capa depende del lugar donde se encuentre , peso edad sexo. (Geffner,2005,p.230)

1.4. Cicatrización

Es un complejo proceso bioquímico natural que realiza el tejido de la piel para reparar el daño que ha sufrido la piel por cualquier eventualidad, que a su vez cumple su función mediante cuatro fases; coagulación, proliferación, inflamación, y remodelación. (Rivera, 2002, p.23)

1.4.1 Células que interviene en el proceso de la cicatrización

2. Hematíes : proveen de oxígeno a las células y eliminan el CO₂
3. Plaquetas: interviene en el proceso de coagulación de la sangre, aportan factores de crecimiento para facilitar la cicatrización.
4. Leucocitos: barrera inmunológica
5. Granulocitos y linfocitos: interviene directamente en la cicatrización, son activados cuando se produce la quimiotaxis, también liberan sustancias que se vierten de las bacterias preparándolas para la fagocitosis.
6. Monocitos: conocidos como leucocitos especializados en ingerir y destruir material muerto u extraño, transformándose en macrófagos, además producen enzimas y factores de crecimiento.
7. Fibroblastos: presentes en el tejido, responsables de la síntesis de colágeno y de la contracción del tejido cicatricial (miofibroblastos). (Rivera, 2002, p.23)

1.4.2. Actividad cicatrizante

La secuencia de cicatrización de lesiones enuncia varios tipos de actividades conocidas como la coagulación, inflamación, formación de tejidos de granulación, formación de matrices y finalmente remodelación de tejido dañado. La propiedad cicatrizante del látex en lesiones de la piel de pueden analizar mediante cultivos de células.

1.4.3 Fisiología de la Cicatrización

El ser humano no posee la capacidad de regenerar miembros o tejidos, simplemente tiene la capacidad de reparar las lesiones de sus tejidos con el proceso de cicatrización.

Definiéndose como cicatrización al proceso reparativo complejo que conduce a la regeneración del epitelio y el remplazo de la dermis por un tejido fibroso conformado por colágeno, fibras nuevas.

1.4.3.1 Fase Inflamatoria/Exudativa

Ocurre cuando se produce la herida y dura aproximadamente tres días dependiendo de las condiciones fisiológicas. En esta fase se presenta las primeras reacciones vasculares y celulares denominadas coagulación, homeóstasis, estos procesos terminan en un lapso de 10 minutos.

Por medio de la dilatación vascular y aumento de la permeabilidad vascular se consigue intensificar la exudación de plasma sanguíneo en el intersticio, ayudando a la migración de leucocitos hacia la zona de la herida, sobre todo de granulocitos y macrófagos neutrofilados, cuya función es limpiar y proteger a la herida de posibles infecciones mediante la acción de la fagocitosis. Sin dejar de lado la acción de los mediadores bioquímicos activos, que activa y estimulan células de la siguiente fase de la curación de la herida. Siendo de vital importancia el accionar de los macrófagos. (Campoverde , 2008., pp. 43-65.)

- **Coagulación y hemostasia**

Se presenta después que se da la lesión en la piel, aproximadamente dura 15min. Su principal función es evitar la pérdida de sangre innecesaria por medio de la formación del coágulo, mediante la liberación de sustancias vasoactivas que eventualmente provocaran vasoconstricción, protegiendo así el sistema vascular y la función de los órganos vitales si fuese una herida grave. La aglomeración que se produce por parte de los trombocitos evita la pérdida innecesaria de sangre, adhiriéndose a los vasos lesionados formando un tampón. En este proceso se dan diferentes escalas (cascada de coagulación), en el cual intervienen aproximadamente 30 factores formando una red de fibrina, que posteriormente protegerá a la herida de agentes exógenos. (Campoverde, 2008., pp. 3-65.)

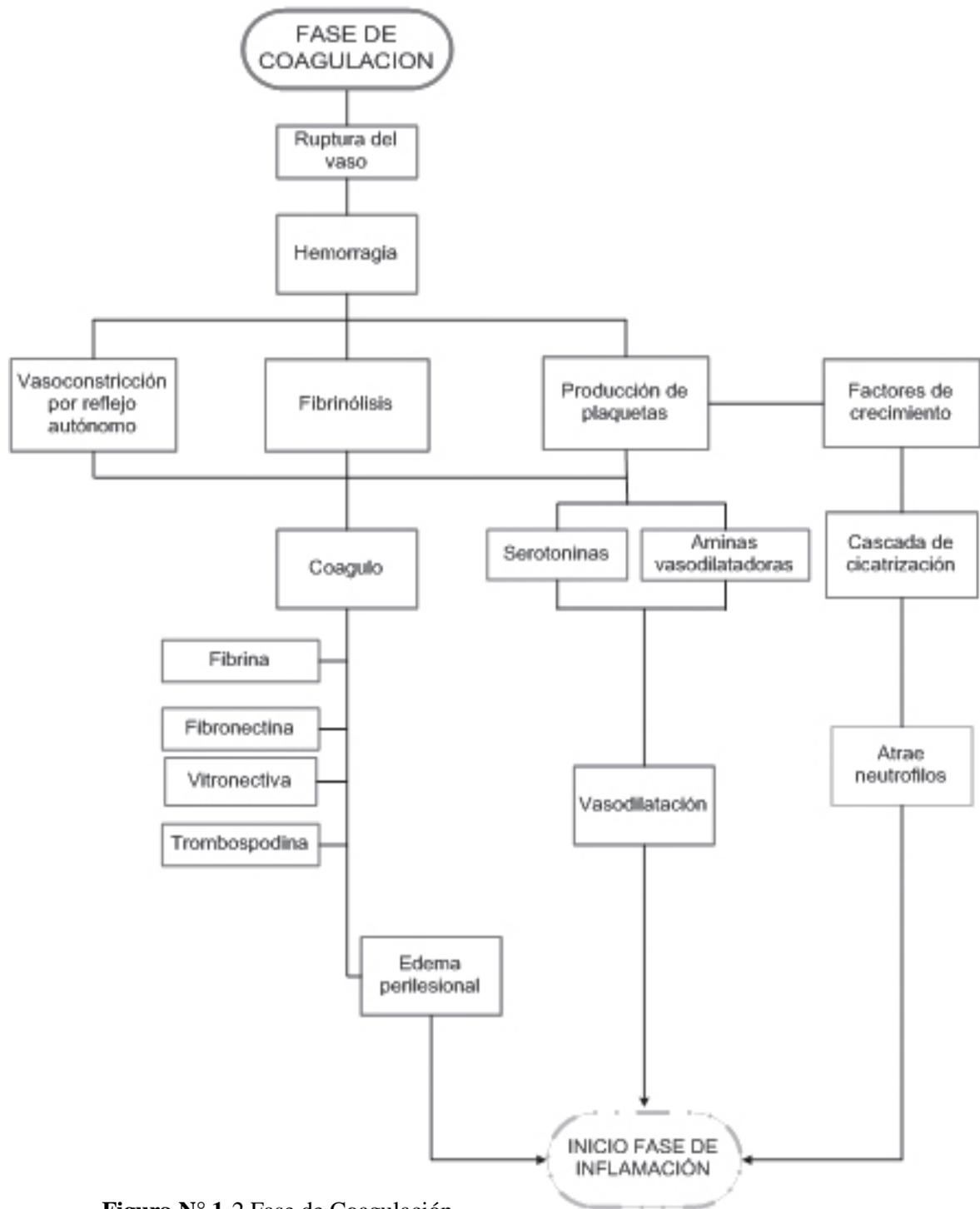


Figura N° 1-2 Fase de Coagulación

Fuente: Campoverde, J. 2008

- **Reacciones Inflamatorias .**

Aquí se destruye bacterias e impurezas ayudando a que se genere la liberación de factores que activen la decisión celular y migración en la fase proliferativa.

- **Presenta las siguientes características.**

Erubescencia, el calor, la hinchazón (tumor), y dolor. Esto se da por la presencia de la histamina, serotonina y la quinina, produciéndose una intensa irrigación sanguínea en la zona de la herida. La dilatación vascular, desencadena el aumento de la permeabilidad vascular por lo que conlleva al aumento de la exudación de plasma sanguíneo en el intersticio, esto se da aproximadamente 10 minutos después que se ha realizado la herida. Luego se forma un edema se da por la acidosis local, provocado por una lenta circulación sanguínea. El dolor producido por la herida se debe a las terminaciones nerviosas que fueron afectadas. (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)

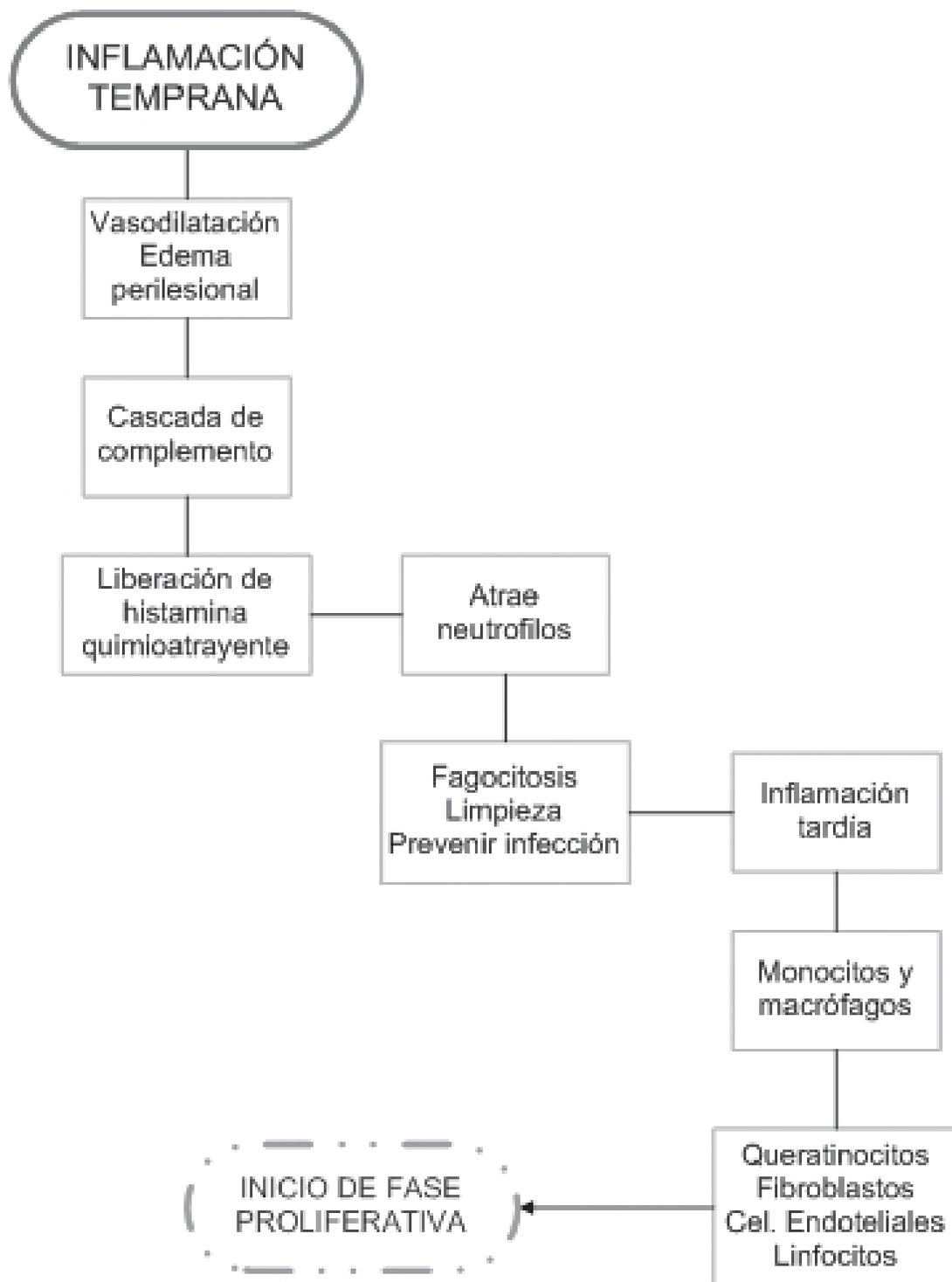
- **Fagocitosis y defensa contra la infección**

Proceso que se produce entre las dos y cuatro horas después que se produce la herida, comenzando con la migración de los leucocitos que fagocitaran agentes exógenos.

Las citocina (TNF- α e interleucina) liberadas en la fase de inflamación, fagocitan bacterias, liberan enzimas disgregadoras de proteínas, que se encargan de eliminar las partes dañadas de la matriz extracelular, considerándose este paso como la limpieza primera de la herida. Al cabo de veinte y cuatro horas se produce la migración de los monocitos hacia la herida transformándose en macrófagos continuando la fagocitosis interviniendo en la liberación de citosina y factores de crecimiento. Esto ocurre en un lapso de tres días hasta que la herida este limpia conjuntamente con la finalización de la fase de inflamación de la herida. La destrucción del material bacteriano se produce gracias al aporte del oxígeno. (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)

- **Papel de los macrófagos.**

Los macrófagos responsables de la curación de las heridas los cuales son atraídos mediante estímulos quimiotácticos por toxina bacterianas y la activación adicional por los granulocitos neutrófilos. Los antígenos capturados por los macrófagos son puestos a disposición de los linfocitos en una forma reconocible. (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)



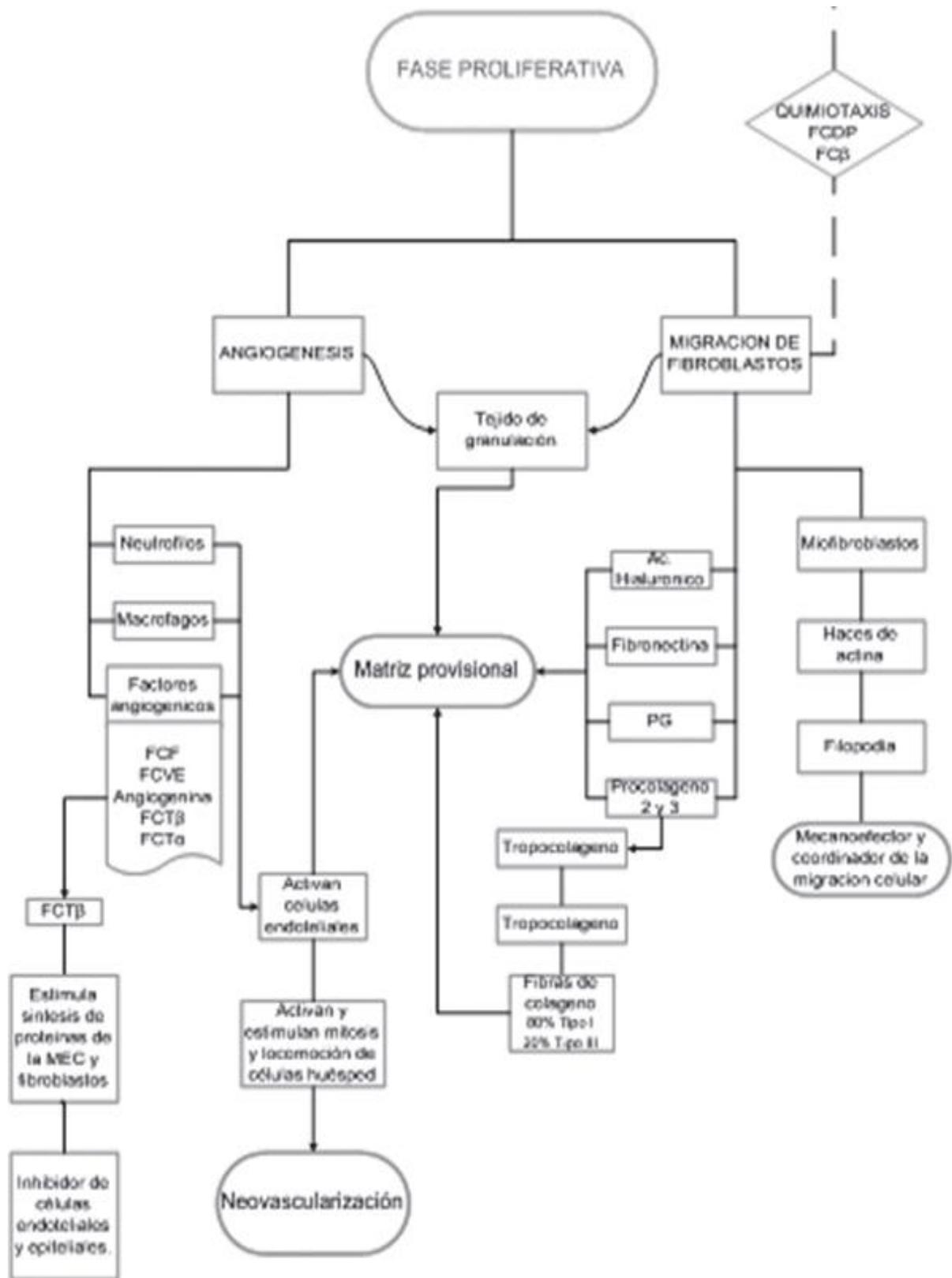


Figura N° 1-3 Fase Proliferativa

1.4.3.2 Fase Proliferativa

Tiene como finalidad alcanzar la reconstitución vascular y llenar la zona defectuosa mediante el tejido granular, esta fase se produce a partir de los cuatro días en que se produce la herida relacionada en la fase inflamatoria- exudativa, la citosina y los factores de crecimiento estimulan y regulan la migración y proliferación de las células encargadas de la reconstitución de los tejidos y vaso. (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)

Reconstitución vascular

La herida debe tener nuevos vasos ya que estos debe garantizar un aporte adecuado de sangre, oxígeno y sustancias nutritivas. La reconstitución vascular se inicia desde los vasos intactos, gracias a la estimulación de los factores de crecimiento, están en capacitadas para degradar su membrana basal, para movilizar y proceder a la zona lesionada, formando se botones vasculares los mismos que se ordenaran uno encima de otro dando forma a las asas vasculares. Los capilares formados se puede decir que son mejores que los que se perdieron, pero son muy susceptibles a traumatismos. (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)

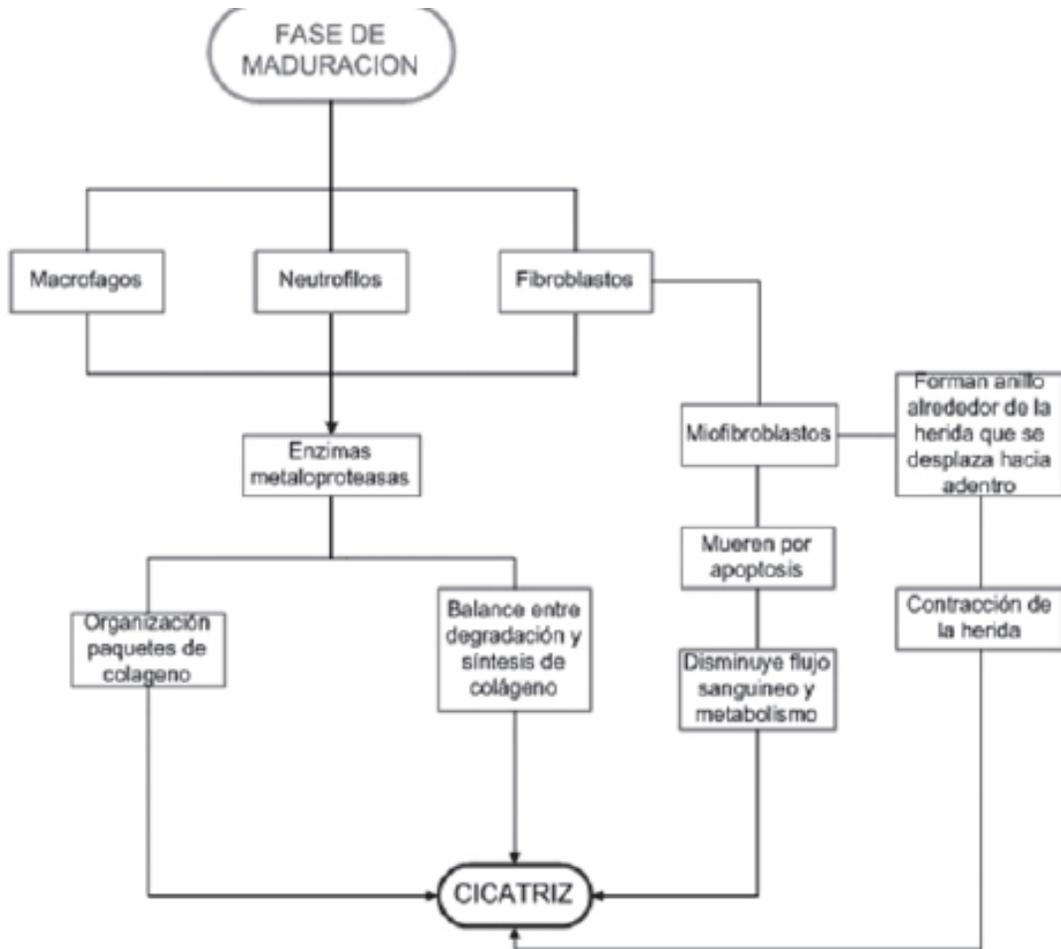


Figura N° 1 -4 Fase de Maduración

Fuente: Campoverde, J. 2008

Tejido granular

Al término de los cuatro días que se produce la herida empieza a rellenarse por la acción de los fibroblastos, que dará lugar a la producción de colágeno dando resistencia al tejido dañado, también se da la producción de proteoglicanos constitución gelatinosa del espacio extracelular. (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)

Fibroblastos

Son atraídos por quimiotáxis hacia la herida, los aminoácidos presentes actúan como sustrato nutritivo, tomando la redícula de fibrina como base para la producción de colágeno, se produce el fenómeno de fibrinólisis controlada por la enzima plasmina. Si existiera el presencia de cuerpos

extraños, bacterias, hematomas o tejido necrótico los fibroblastos no podrán realizar su acción de reconstitución vascular. Se sabe que una parte de fibroblastos se transformaran en miofibroblastos que causaran contracción de la herida (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)

Granulación

Conocida como unidad hística que cierra definitivamente la herida y hace las veces de lecho para la sucesiva epitelización, por lo que se formara el tejido cicatricial.

1.4.3.3 Fase de diferenciación y reconstitución.

En un estimado de seis y diez días comienza la maduración de las fibras de colágeno. La epitelización cierra el proceso de curación de la herida, produciéndose la reconstitución de las células epidérmicas a través de la mitosis y la migración celular en especial desde los bordes de la herida. (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)

La contracción de la herida

Por medio de las sustancias tisulares no destruidas, a que la zona de reparación incompleta se mantenga lo más reducida y la herida vaya cerrando de manera espontánea. Los fibroblastos juegan un papel importante en este proceso ya que se transforman en fibrocitos (manera de reposo de los fibroblastos) y miofibroblastos que provee de actomiosina, que tiene acción de contracción de músculos. (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)

Epitelización

Relacionado con la granulación de la herida, con esto se cierra el ciclo de cicatrización.

Mitosis y migración

Las células basales que interviene en el metabolismo basal tiene una gran capacidad mitótica que se ve reflejado en el grado de la herida, durante la maduración fisiológica de la epidermis migran de la capa basal hacia la superficie de la piel trabajando en la repacion de la piel. La migración de la células superficiales de la epidermis no se da uniformemente se reduce en dependencia del estado en que se encuentre la granulación de la herida.

Las capas epiteliales rápidamente volverán a tener las mismas características recuperando el grosor y capacidad de resistencia. (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)

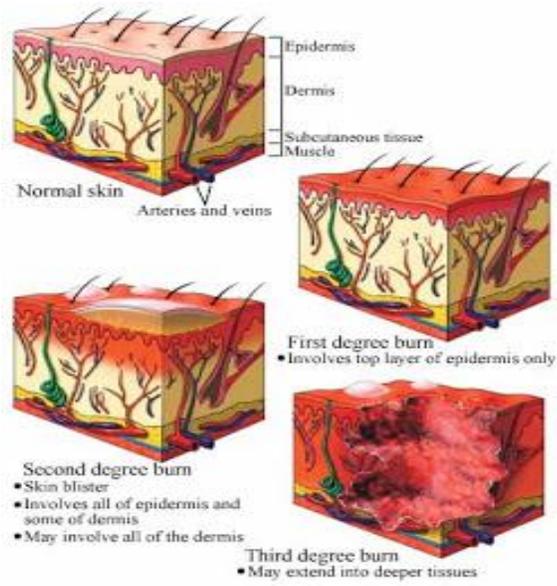


Figura N° 1-5 Fases de cicatrización

Fuente: <http://cicatrizaciona.blogspot.com/>

1.4.4 Factores que contribuyen a la cicatrización

Edad: mejor cicatrización en los seres jóvenes

Temperatura local: a una temperatura de 30°C aporta a una mejor cicatrización

Posibles infecciones de la herida: microorganismos como el *estreptococo beta hemolítico* y *pseudomona*, retrasan la cicatrización

Mal nutrición: La malnutrición proteica afecta al metabolismo proteico del organismo y altera la síntesis de colágeno y la formación de tejido conectivo. La falta de vitamina C, un cofactor necesario para la hidroxilación del procolágeno, conlleva una alteración en la reparación tisular y la dehiscencia de heridas. La vitamina A es importante para la epitelización, la síntesis de glucoproteínas y proteoglucanos; es un cofactor. Muchas otras vitaminas incluyendo la riboflavina, piridoxina y tiamina actúan como cofactores para la formación de colágeno. La deficiencia de zinc, requerido por la DNA y RNA polimerasa, retrasa la epitelización y la proliferación fibroblástica. El hierro es un cofactor de la hidroxilación del colágeno y su déficit altera la capacidad bactericida de los fagocitos. (Campoverde, 2008., pp. 43-65.)

Fármacos:

- **Corticoides:** disminuyen la vascularización, producción de proteínas, epitelización, formación de colágeno
- **Quimioterapéuticos:** interviene en la división celular, en la síntesis de proteínas, DNA y RNA. (Actúan en la fase proliferativa)
- **Inmunosupresores:** deficiencia en la respiración celular, (Actúa en la fase inflamatoria)
- **Vasoconstrictores:** potencia las infecciones , baja las defensas locales.
- **Hormonas(somatotropa-adrogenicas):**favorece a la cicatrización

Enfermedades sistémicas

- **Diabetes mellitus:** minimiza la formación de tejido conectivo
- **Alcoholismo crónico:** retrasa la síntesis proteica y migración celular
- **Vasculopatía periférica:** provoca deficiencia en la liberación de oxígeno y actividad metabólica de las células. (Rivera, 2002, pp.23)

1.4.5 Tipos de cicatrización

Cicatrización por primera intención

Se presenta cuando la herida no es muy profunda que facilitando la limpieza y reparación del tejido dañado sin complicación alguna. A comparación de las heridas profundas que involucran otros procesos para su correcta cicatrización.

Cicatrización por segunda intención.

Es una secuencia de pasos largos a causa de la pérdida o muerte de tejido seguido por una infección en la piel. La herida deja de curarse por unión primaria, por segunda intención puede ser: “*dejada abierta y permite la cicatrización desde los planos más inferiores hacia la superficie.*”. (Rivera, 2002, p.23)

La acción de los tejidos granulados que contienen miofibroblastos es muy lenta por esta causa la epitelización demora, como es en el caso de quemaduras.

Cicatrización por tercera intención

Esto se presenta cuando el tejido granulado está demasiado junto, conocido como cierre primario retardado. Siendo este un método seguro para reparar las heridas que se encuentran contaminadas con gravedad, con una posible pérdida de tejido y alto riesgo de una infección severa. (Rivera, 2002, p.23)

1.5. Herida

Herida es aquella lesión que se produce un rompimiento de la piel en alguno de los tejidos blandos del organismo. (Tortosa, 2012, p. 25)

1.5.2 Tipos de heridas

1. Según la integridad de la piel.

Herida abierta

La causa de estas heridas es producida por traumatismos con objetos cortantes, dañando la continuidad de la piel o de las mucosas. Ejemplos, heridas por arma de fuego u arma blanca, incisión quirúrgica... etc. (Tortosa, 2012, p. 25)

Herida cerrada

No presentan continuidad de la piel, que se da por una contusión con un objeto que ejerce fuerza de torsión o desaceleración contra el organismo por ejemplo desgarre, fracturas óseas. (Tortosa, 2012, p. 25)

2. Según a la gravedad de la lesión

Herida superficial

Se da por el roce de la superficie cutánea, afectando a la epidermis. Como ejemplo se puede tomar una quemadura leve. (Tortosa, 2012, p. 25)

Herida penetrante

Afecta a la continuidad de la epidermis, dermis y tejidos u órganos que se encuentran en el interior del organismo la causa más común son objetos extraños o instrumentos penetrantes, habitualmente de forma involuntaria. Por ejemplo cuchillos, pistolas. (Santander, 2008)

1.6. Definición de Extractos

Este procedimiento se da con la finalidad de separar principios activos medicinales tanto de plantas como animales, de los compuestos inactivos en los cuales se utilizara solventes ya estandarizados .Para un mejor manejo de los productos obtenidos de las plantas se los trata con las siguientes técnicas; tinturas, extractos pilulares, extractos fluidos, extractos en polvo, decocciones e infusiones. A todos estos procesos son denominados galénicos. (Alcocer, 2003, p.56)

El de mayor interés son los extractos tanto líquidos, semilíquidos, que estos pueden ser extractos fluidos, blandos, densos o sólidos, obtenidos por lo general de la droga seca.

1.6.1 Clasificación de extractos:

- ✓ Extractos ajustados: se encuentran en el nivel de tolerancia aceptable con una actividad terapéutica.
- ✓ Extractos estandarizados: es una mezcla de sustancias inertes y diferentes lotes de extractos.
- ✓ Extractos cuantificables: están definidos a un rango de constituyentes, por estar constituidos por la mezcla de extractos o material específico.
- ✓ Otros, se forman por el tipo de droga tanto animal como vegetal y la manera de extracción de la misma. (Alcocer,2003, p.56)

1.7 Maceración

Es un proceso en que los componentes solidos se colocan en un recipiente con 750 mL de solvente prescripto y se los deja reposar durante tres días como mínimo, en un lugar tibio agitando con frecuencia hasta la disolución del material soluble. Luego se filtra la mezcla y, una vez que drena la mayor parte de líquido, el residuo presente en el filtro les lava con cantidad suficiente de solvente o la mezcla de solventes prescriptos .los filtrados se combina para producir un volumen de 100mL (Alcocer, 2003, p.56)

1.8 Productos del grupo control

1.8.1 Eterol

Composición: Cada 100 ml contienen:

Fenol	1g
Violeta de genciana	0,4 g
Excipientes alcohólico c.s.p.	100mL

Es un antiséptico de uso externo se lo coloca en la parte afectada, previo a su limpieza para que así tenga una correcta acción. Se lo debe conservar a una temperatura inferior a 30 ° C protegido de la luz.

Efectivo como antiséptico y cicatrizante es recomendado en el tratamiento de abscesos, fístulas y mataduras.

Dosis y modo de empleo: eterol es un antiséptico de uso externo y debe aplicarse diariamente sobre la superficie afectada, previa limpieza hasta su completa curación. (Life, 2015)

1.8.2.Crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina



Figura: N° 1-6 Crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina

Fuente: <http://www.edifarm.com.ec>

Clasificación ATC:

D07C A03 Corticoesteroides de baja potencia: Prednisolona con antibióticos.. Está compuesto por acetato de prednisolona y sulfato de neomicina

Indicaciones: dermatitis, dermatosis; dermatitis seborreicas, eczemas en general, prurito ano – genital, picaduras de insectos... etc., aportando a la cicatrización lenta. (Laboratorios Lamosan, 2015)

Efectos secundarios: hipersensibilidad en personas susceptibles.

Dosificación: dos a tres veces diarias sobre la herida, con una suave fricción uniforme y así estimular la absorción. Es recomendable usar gasa.(Group, 2015)

1.9 Ratón (*mus musculus*)

Ratón de laboratorio *mus musculus*: Es una especie más conocida y utilizada en laboratorios de experimentación, también son utilizados como mascotas por ser dóciles y de fácil manipulación. (González, 2014, p. 56)



Figura N°1-7 Ratón

Fuente: <http://www.bat-rodents.eu>

Taxonomía:

Clase: Mamalia

Orden: Rodentia

Familia: Muridae

Género: Mus

Especie: Musculus

Morfología

Los adultos

- ✓ Pesan entre 15 g - 40g
- ✓ Miden: 15cm – 20cm (con la cola)
- ✓ Coloración de pelaje: variedad el más común de uso de laboratorio blanco

Alimentación: son omnívoros

- ✓ Los pellet deben contener (compuestos de semillas, vitaminas, proteínas)
- ✓ Diariamente se le alimenta con 5 pellet y agua clorada

Convivencia:

- ✓ Es recomendable en parejas o en grupos de mismo genero
- ✓ Alojamiento:
 - Refugio de espacio amplio con adecuada ventilación
 - Con bebederos de fácil acceso
 - Una rueda para que se ejercite estimulando su instinto
 - Una temperatura de 20°C prevenir el frio y la humedad, no exponerlos a la luz continua.

Reproducción: estado gestante entre 19- 21 días, la camada va entre 3 a 14 crías. (González, 2014, p. 56)

2. Hierba Mosquera

Nombre común: Chala, cucharilla, mosquero, mosquera, purga

Nombre científico: (*croton elegans kunth*)

Familia: Euphorbiaceae

Sinónimos:

- ✓ *Croton elegans* Kunth

- ✓ Croton bailloniaus Muell. Arg.
- ✓ Croton matourensis Aublet
- ✓ Croton wagnerri Muell. Arg

2.1. Propiedades farmacológicas

- Se usa el aceite de las semillas que es irritante, rubefaciente y catártico. Se toma de media a una gota, actúa con rapidez y frecuentemente induce a la evacuación del intestino después de una hora de ingerido. (Barrionuevo, 2011., pp.9-12)
- La resina o gomoresina de esta especie se aplica unas gotas directamente en las muelas con presencia de caries o doloridas, o para las encías sangrantes, de igual manera para eliminar las verrugas. (Barrionuevo, 2011., pp.9-12)
- Se utilizan de 3 a 5 gotas de resina se tragan para curar la amigdalitis y la angina. La infusión de la planta con Plantago mejor se usa como gargarismo para curar la amigdalitis. Se le usa también como desinfectante de llagas. (Barrionuevo, 2011., pp.9-12)
- La infusión de la planta se usa como baño para inflamaciones vaginales.
- La infusión de las hojas se usa para el tratamiento de úlceras gástricas y cancerosas.
- Las ramas son usadas para limpiar el llamado “mal aire”

Actividad Antibacteriana

- El extracto etanólico total de las hojas a una concentración de 2000 ppm presenta una actividad del 100% sobre *Staphylococcus epidermidis* , *Bacillus subtilis* , *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (8000 ppm) , *Salmonella typhi* (4000 ppm), 75 % sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (4000 ppm). (Barrionuevo, 2011., pp.9-12)

Actividad Antimicótica

- Presenta actividad del 75% sobre *Micosporum cannis* (6000 ppm)
- Y del 100% sobre *Tricophytum rubrum* (8000 ppm) .

Actividad Antiviral

- Modelo experimental: Screening in vitro de agentes antivirales en plantas Superiores.
- Presenta una actividad antiherpética sobre Herpes simplex tipo 1 (HSV-1) del 8.5%.

Actividad Antiinflamatoria

- El extracto etanólico presenta una actividad en la desaparición del edema en pata de rata, en la fase aguda de 1.05 con respecto a una dosis de 80 mg/kg de fenilbutazona.

Actividad Gastro protectora

- El extracto etanólico de las hojas a 200 mg/kg provoca un decaencia importante del índice de ulceración del 93,47 %.

2.2. Investigación Fitoquímica

- Alcaloides
- Flavonoides
- Taninos
- Esteroles

2.2.1. Alcaloides

Tiene una estructura diversa, con anillos heterocíclicos con nitrógeno, obtenidos a partir de aminoácidos. Su toxicidad está dada por la dosis

La clasificación más común se da de la siguiente manera:

- ✓ **Alcaloides verdaderos:** presenta un nitrógeno intracíclico son de carácter básico se encuentra a manera de sal, procedentes de aminoácidos.
- ✓ **Protoalcaloides:** son derivados del metabolismo de los aminoácidos, presenta un nitrógeno extracíclico con carácter básico.
- ✓ **Pseudoalcaloides:** poseen la mayoría de las características de los alcaloides en general pero no son derivados de aminoácidos.
- ✓ **Alcaloides imperfectos:** derivados de las bases púricas, no son de fácil identificación.
(Barrionuevo, 2011., pp.9-12)

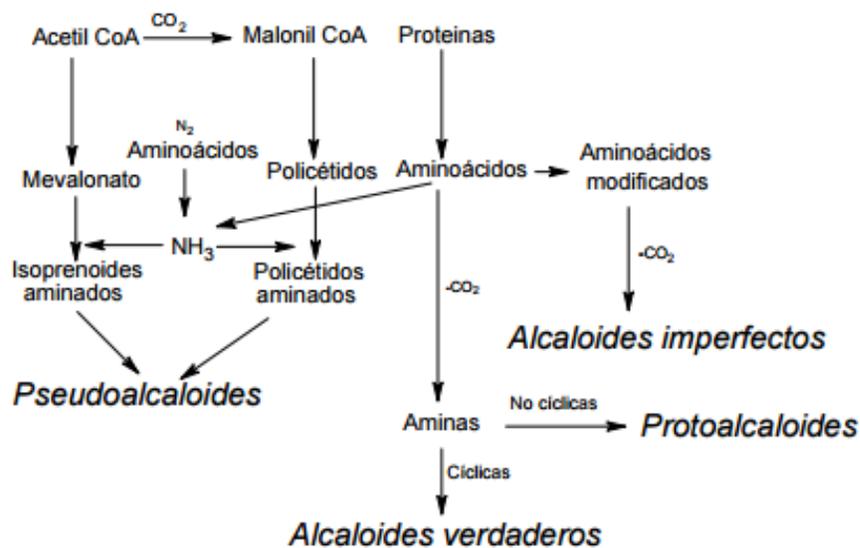


Figura N° 1- 8 Aspectos biogénicos para la clasificación de los alcaloides

Fuente: Martínez, A.2005

Para la identificación química de los alcaloides se aplica los siguientes reactivos:

- ✓ Reactivo de Wagner
- ✓ Reactivo de Mayer
- ✓ Reactivo de Dragendorff,
- ✓ Reactivo de Hager
- ✓ Reactivo de Bertrand
- ✓ Reactivo de Eherlich
- ✓ Reactivo de Vitali-Morin ...

2.2.2. Flavonoides

Son compuestos químicos que presentan dos anillos bencénicos los mismos que están constituidos por seis carbonos, unidos por una cadena de tres átomos de carbono. Por su extensa gama se los han clasificado en relación a cadena central de C3. (Martínez, .2005)

Estos son: charconas, flavonas, flavonoles, flavononoles, flavanononas, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas, isoflavonoides, pterocarpanos, rotenoides... etc . (Martínez, .2005)

Métodos de identificación

- ✓ Ensayos de coloración
- ✓ Ensayo de Shinoda
- ✓ Ensayo con Zn/HCl
- ✓ Ensayo de Pacheco
- ✓ · Ensayo del estroncio-amoniaco
- ✓ Reconocimiento de antocianinas

2.2.3. Taninos

Metabolitos secundarios fenólicos solubles en agua, sensibles a reaccionar con alcaloides, gelatina y otras proteínas. (Velásquez, 2010, p.45)

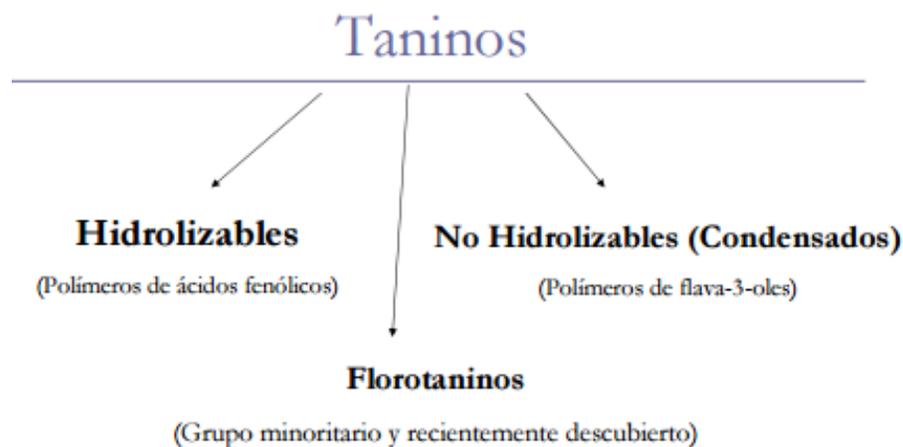
Para identificación de taninos:

Pruebas de precipitación

- ✓ 4 K₂Cr₂O₇ (observar precipitado naranja).
- ✓ 3 CH₃COOPbOH (observar precipitado blanco),

Pruebas coloración,

- ✓ 2 HCl/CHCOH
- ✓ Prueba 1 Cl₃Fe (observar cambio de color)
 - ✓ 1 NaCl 2% - GELATINA 1% (observar precipitado), prueba
 - ✓ 2 NaCl 10% - Cl₃Fe 1% (observar cambio de color),



Difieren en su estructura química como en su origen biosintético

Figura N° 1-9 Origen Biosintético

Fuente: Fernández, K. 2007

2.2.4. Esteroles

Compuestos esteroides con estructura hidrogenada con un núcleo 17H- ciclopentano α – fenantreno, se encuentran dispersos en la mayoría de la naturaleza tanto en plantas como en animales. También forman compuestos de origen adrenal, ciertos alcaloides, vitaminas, ácidos biliares, glucósidos cardiacos, saponinas hormonas sexuales... etc. (Fernández, 2007)

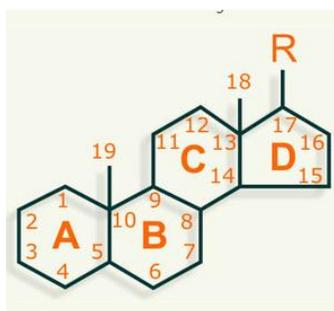


Figura N°1- 10 Estructura base de un esteroide

Fuente: <http://ayudahispano-3000.blogspot.com>

Todo está con su nomenclatura definida en función de los anillos evitando la rotación de la estructura. (Bravo, 2006)

CAPÍTULO II

2 .MARCO METODOLOGICO

2.1. Lugar de Investigación

- ✓ Identificación taxonómica: herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH)
- ✓ Control de calidad de la planta: Laboratorio de fitoquímica y análisis instrumental de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- ✓ El Biotério de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo para la evaluar la actividad cicatrizante.
- ✓ Análisis Histopatológico: laboratorio Histopatológico de SOLCA- Riobamba

2.2. Materiales, Equipos y Reactivos

2.2.1 *Materia Prima*

La Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*), se la encuentra en la parroquia Picaihua, Provincia del Tungurahua, ubicada a 7 km en la parte sureste del centro de la ciudad de Ambato. Se asienta a una altura de 2600 msnm. Superficie: 154 kilómetros cuadrados. Clima: Prevalece un clima templado y seco con una temperatura media de 15 °C.

2.2.2. *Reactivo Biológico*

En el estudio in vivo de la actividad cicatrizante se utilizó ratones albinos (*mus musculus*)

Descripción:

- ✓ **Peso:** 35g – 40g
- ✓ **Edad:** dos meses
- ✓ **Sexo:** 12 machos – 6 hembras
- ✓ **Lugar de nacimiento:** Biotério de la escuela de Bioquímica y Farmacia (ESPOCH)

Condiciones ambientales:

- ✓ Humedad relativa: 50% +/- 10
- ✓ Temperatura: 22°C +/-2
- ✓ Periodo de luz: 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad
- ✓ Camas con viruta: cambio cada 48 horas

Alimentación: pellets (15g) 5 por cada individuo y agua clorada

2.2.3 Equipos, materiales y reactivos para el Análisis de la Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*).

Tabla N° 2-1. Equipos y material biológico usados en la investigación.

EQUIPOS	MATERIAL BIOLÓGICO
Balanza analítica	18 Ratones <i>mus musculos</i> 12 machos 6 hembras
Estufa	
Mufla	
pH-metro	
Refractómetro	
Espectrofotómetro	
Aspersor para revelado de cromatografías	
Ultra sonido (temperatura ambiente)	

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

Tabla N°2-2. Materiales de laboratorio usados en la investigación.

MATERIALES	
Pera de succión	Balones aforados (10 mL,50 mL,100 mL)
Guantes, mandil, cubre zapatos, mascarilla	Espátula
Jaula , bebederos	Pipetas graduadas de 1 mL y 10 mL
Papel filtro y papel aluminio	Pipetas graduadas con un rango desde 10 hasta 1000 µl
Placas de sílica en papel	Envases estériles de vidrio
Placas Petri	Esferos , cinta masking, bisturí, algodón
Placas Petri fiells	Envases de orina
Tubos de ensayo	Varilla de agitación
Gradilla	Pipeta volumétrica de 5 mL
Pinzas para tubo	Capsula de porcelana
Vasos de precipitación (50 mL ,100 mL,250 mL,500 mL)	Probetas de 10, 100, 500 mL
Trípode , Embudo simple	Picnómetro
Reverbero	

Fuente: Cristina E.,Tigse M.,2015

Tabla N°2-3. Reactivos de laboratorio usados en la investigación.

REACTIVOS	
Tamizaje	Cuantificación de metabolitos secundarios
Reactivo de Wagner	Agua destilada
Reactivo de Baljet	Alcohol
Reactivo de Sudan III	Rutina (estándar de flavonoides)
Reactivo de Fehling	Nitrito de sodio
Reactivo de Dragendorff	Tricloruro de aluminio
Reactivo de Mayer	Hidróxido de sodio
Agua destilada	Foling de ciocalteau
Hidróxido de sodio	Carbonato de sodio
Magnesio metálico	Tartrato de sodio
Cloruro férrico	
Para control de calidad de la droga	Para el proceso de cicatrización
Ácido clorhídrico	Crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina.
Acetato de etilo	Crema depiladora
Nitrato de plata	Lidocaína con epinefrina
Agua destilada	Eterol
Cloroformo	Alcohol al 96%(diluidas: al 20% , 40%,80%)
	Formol

Fuente: Cristina E.,Tigse M.,2015

2.3 Métodos y Técnicas

2.3.1 Recolección del material vegetal

La comprobación e identificación taxonómica de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*) fueron realizadas en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) quien certificó el ejemplar.

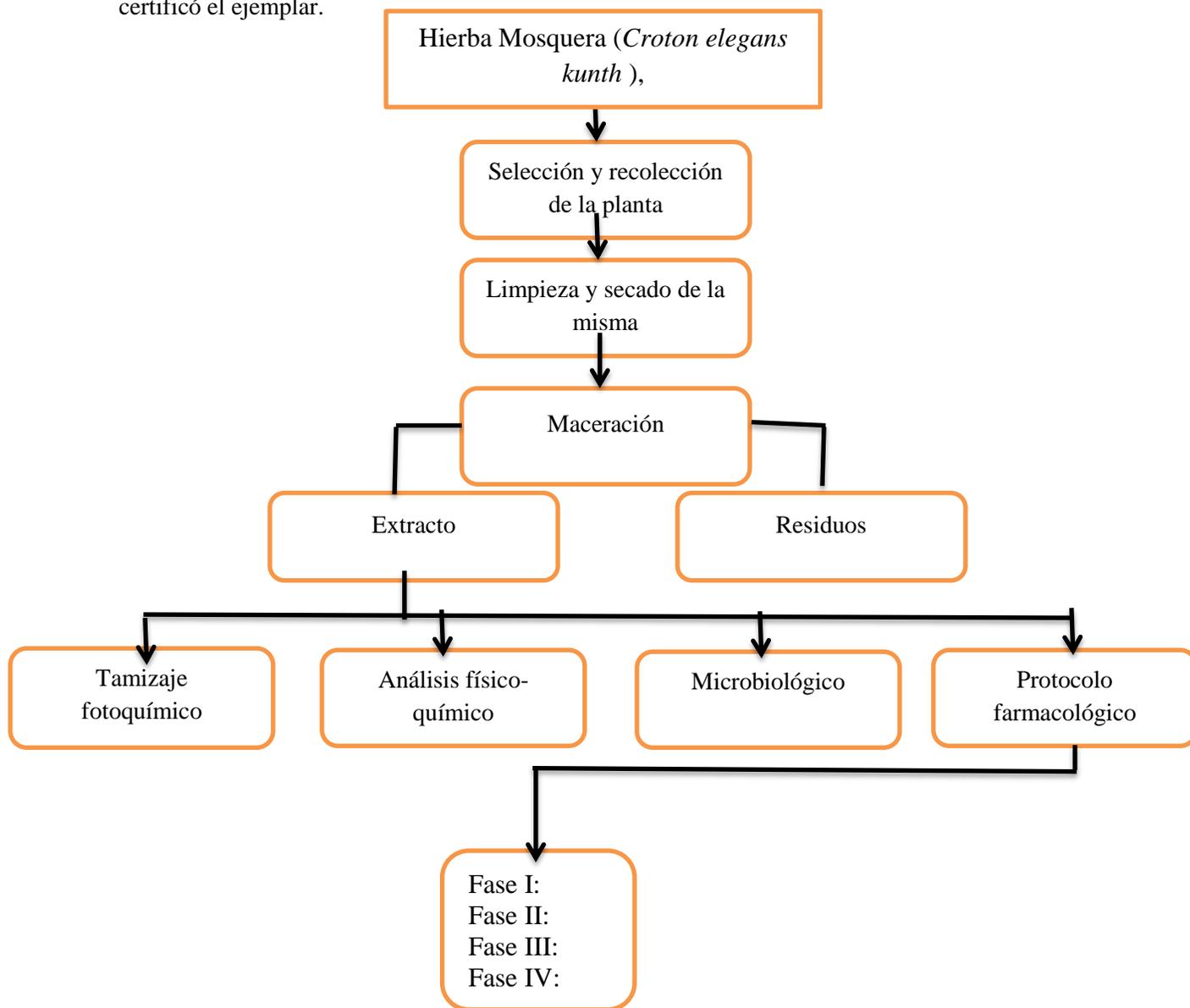


Figura N° 2-11: Esquema del tratamiento de la Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*)

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015.

2.3.2. Obtención de los extractos para evaluación cicatrizante de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*)

Extracto etéreo, etanólico, acuoso

- ✓ Pesar 30g de material vegetal seco y troceado previamente molido
- ✓ Colocar en un recipiente de vidrio con éter 200 mL , etanol 100mL, agua 100mL, cubriendo completamente la planta.
- ✓ Dejar macerar el ultrasonido 3 horas, a temperatura ambiente.
- ✓ Filtrar el macerado y colocar en frascos ámbar y se dejó en refrigeración (4°C), hasta su uso.
- ✓ El mismo procedimiento se lo realizo para los tres extractos con diferentes ml de solvente.

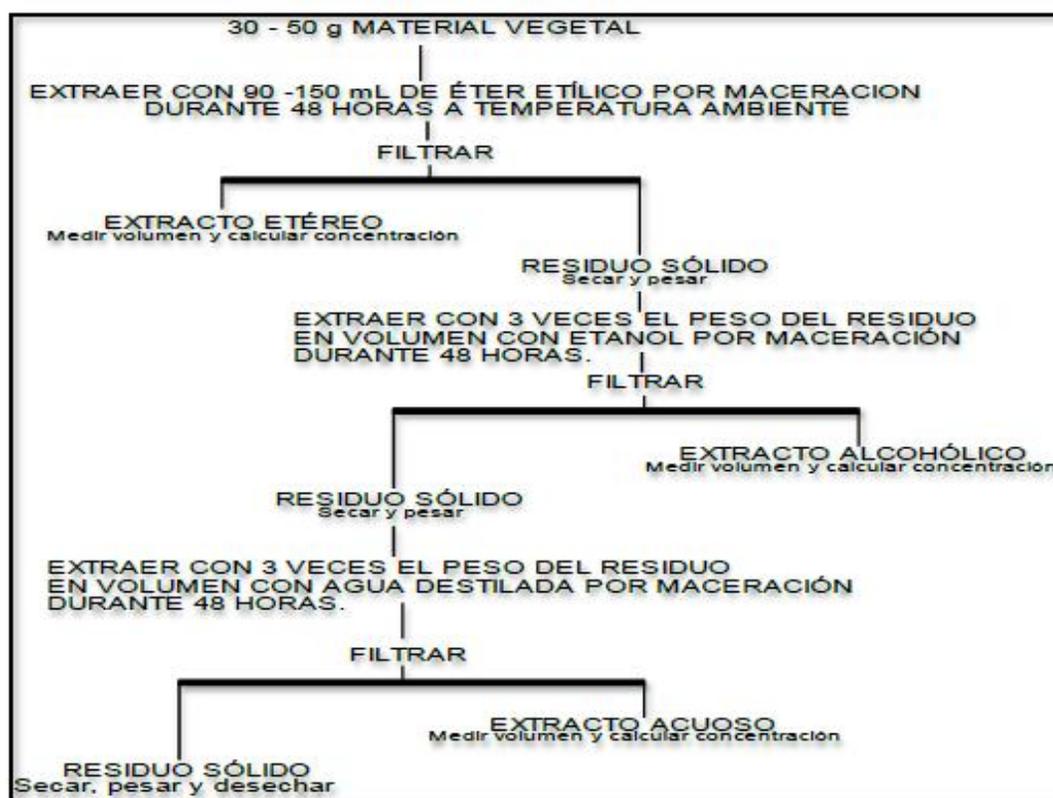


Figura N° 2-12 Esquema para la elaboración del extracto madre de la Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*)

Fuente: Normas ecuatorianas de Fitomedicamentos 2001. (Muñoz, M. 2013)

2.3.3. Control de Calidad de la materia prima Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*)

El control de calidad de la droga vegetal se lo realizó, en base a la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001).

Para el control de calidad de la droga cruda se realizó las siguientes pruebas:

- ✓ Contenido de humedad: método gravimétrico (pérdida por desecación en estufa).
- ✓ Cenizas totales: método gravimétrico (determinación en seco)
- ✓ Cenizas solubles en agua: método de calcinación.
- ✓ Cenizas insolubles en ácido clorhídrico: método de calcinación.

2.3.4 Parámetros de calidad cualitativa (*Tamizaje Fitoquímico*)

El análisis del tamizaje fitoquímico se realizó en base a las Normas expresadas en la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001). tesis de MUÑOS, M. 20113. El análisis cualitativo se realiza para los siguientes metabolitos secundarios.

Tabla N°2-4. Tamizaje fitoquímico de la Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*)

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO
Aceites – Grasas	Sudan
Lactonas Cumarinas	Baljet
Alcaloides	Dragendorft
Alcaloides	Mayer
Alcaloides	Wagner
Flavonoides	Shinoda
Azúcares reductores	Fehling
Grupo de flavonoide- antocianos	Antocianos

Fuente: Muñoz A.,2013

2.3.5 Parámetros de calidad del extracto etanólico

La determinación de los parámetros de calidad del extracto etanólico, se realizó en base a las Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001). tesis de MUÑOS, M. 20113. Los parámetros de calidad son:

- ✓ Requisitos organolépticos.
- ✓ Densidad relativa
- ✓ Índice de refracción
- ✓ pH de extractos
- ✓ Sólidos totales: método gravimétrico (Estufa)

2.3.6. Análisis Microbiológico

- ✓ Colocar la placa Petrifilm en una área plana. Elevar el film superior
- ✓ Tomar 1 ml de muestra en el centro e del film inferior. Conservar la pipeta verticalmente.
- ✓ Dejar caer el film superior sobre el film de abajo.
- ✓ Ubicar el aplicador en el film superior bien centrado sobre el inóculo.
- ✓ Usar presión de manera suave sobre el aplicador para distribuir el inóculo por toda la zona circular.
- ✓ Retirar el aplicador. Esperar 1 minuto para que se solidifique el gel.
- ✓ Incubar las placas Petrifilm cara arriba y apiladas en grupos de no más de 20 placas. Incubar a 30 +/-1°C durante 72 +/-2 horas
- ✓ Dar lectura de los resultados obtenidos.

1.6 Análisis Cromatográfico

- ✓ Usar el extracto etanólico concentrado para la cromatografía
- ✓ Aplicar 10 µL del concentrado etanólico en papel cromatográfico de 10 cm largo por 2cm de ancho.
- ✓ Dejar secar después de cada aplicación.
- ✓ Colocar la placa en la cuba cromatografía, hasta que el solvente recorra $\frac{3}{4}$ partes de la placa.
- ✓ Revelar la placa y se dejó secar.
- ✓ Observar la presencia de manchas coloreadas, después de revelado con los reactivos correspondientes.

1.6.2 Análisis cromatográfico para flavonoides

- ✓ Adsorbentes: papel de Silica gel
- ✓ Sistema de solventes: cloroformo – acetona – ácido fórmico (7,5:1,7.5:0,8)
- ✓ Revelador: Sulfato de Cerio

Cálculo:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

2.5 Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales expresado en porcentaje de Rutina

El análisis del contenido de flavonoides en extracto metanólico fue medido por espectrofotometría UV- visible, según el método de Shinet al, con ligeras modificaciones.

- ✓ Tomar una alícuota de 250 μL de extracto y se colocó en un tubo con 400 μL de agua destilada.
- ✓ Añadir 38 μL de NaNO_2 al 5% p/v, se homogenizó, se tapó y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 5min.
- ✓ Añadir 38 μL de AlCl_3 al 10% p/v, se agitó, se tapó y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 6min.
- ✓ Agregar 250 μL de NaOH 1M y se completó a un volumen final de 1250 μL con agua destilada., la mismas que fueron medidos
- ✓ La absorbancia de la reacción fue medida inmediatamente a 400 nm en un espectrofotómetro UV – visible.
- ✓ La concentración de flavonoides fue establecida empleando una curva de calibración con un estándar de rutina a diferentes diluciones.

Los resultados se expresaron como mg de rutina por gramo de tejido vegetal

2.6 Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos (Micrométodo de Folin-Ciocalteu)

Los compuestos fenólicos son oxidados por el reactivo de Folin-Ciocalteu. Este reactivo contiene una mezcla de ácido fosfotúngstico ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) y el ácido fosfomolibdico ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), que se reduce por oxidación de los fenoles, originando óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo

O_2), de color azul. La coloración azul producida es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes, y posee una absorción máxima a 765 nm. (25)

En el laboratorio se realizó el ensayo en los extractos siguiendo el siguiente procedimiento:

- ✓ Tomar una alícuota de 0,1 μl de extracto metanólico y se colocó en un balón aforado de 100 ml
- ✓ Tomar 10 mL del balón aforado
- ✓ Añadir 1,5 μl del reactivo de folin-ciocalteau, con mucho cuidado y en la obscuridad pues el reactivo tiende a oxidarse por ende a dañar el reactivo
- ✓ Inmediatamente añadir 2 μl de carbonato de sodio 20%.
- ✓ La concentración de compuestos fenólicos fue establecida empleando una curva de calibración con un estándar de Ácido Tánico a diferentes diluciones.
- ✓ Los resultados se expresaron como mg de Ácido Tánico por gramo de tejido vegetal.
- ✓ La concentración de compuestos fenólicos totales se determinó mediante la elaboración de la curva de calibración usando el ácido Tánico como estándar de referencia, se prepararon soluciones en diferentes concentraciones.
- ✓ Se determinó la ecuación de la recta para la curva de calibración en base al estándar de ácido Tánico preparado a diferentes concentraciones medidas a 700 nm.

2.6.1. Determinación colorimétrica de tanino expresados como ácido Tánico por el método de Folin – Ciocalteu. .

En el laboratorio se realizó el ensayo en los extractos siguiendo el siguiente procedimiento:

- ✓ Colocar una alícuota de 0,1 μl de extracto metanólico y se colocó en un balón aforado de 100 ml
- ✓ Tomar 10 mL del balón aforado
- ✓ Añadir 2 μl del reactivo de folin-ciocalteau, con mucho cuidado y en la obscuridad pues el reactivo tiende a oxidarse por ende a dañar el reactivo
- ✓ Añadir 1 μl de carbonato de sodio 20%.
- ✓ La concentración de compuestos fenólicos fue establecida empleando una curva de calibración con un estándar de Ácido Tánico a diferentes diluciones.
- ✓ Los resultados se expresaron como mg de Ácido Tánico por gramo de tejido vegetal.
- ✓ La concentración de compuestos fenólicos totales se determinó mediante la elaboración de la curva de calibración usando el ácido Tánico como estándar de referencia, se prepararon soluciones en diferentes concentraciones

- ✓ Se determinó la ecuación de la recta para la curva de calibración en base al estándar de ácido Tánico preparado a diferentes concentraciones medidas a 700 nm.

2.7 Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*)

La investigación se efectuó en el Biotério de tesis de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH.

- ✓ Separar a los ratones por grupos para identificación de cada actividad.
- ✓ Codificar a los animales de experimentación (grupo control crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina.) y eterol, grupo control, extractos 20%, 40%, 80%).
- ✓ Depilar el dorso del animal de experimentación
- ✓ Aplicar la lidocaína con epinefrina (anestésico) subcutáneamente.
- ✓ Inducir una herida no más de 2 cm. por 2mm de profundidad en el dorso del ratón (*mus musculus*)
- ✓ Aplicar los extractos y grupos control
- ✓ Observar la evolución de la cicatrización todos los días.
- ✓ La evaluación de la progresión de la cicatrización se realizó en 5 etapas según la evolución de una herida en general.

2.7.1 Etapa 1: Período de ambientación

Ambientar a todos los animales tanto en el lugar como en la presencia del manipulador, la alimentación se dio acuerdo al protocolo de investigación.

Temperatura: 22 °C +/- 2

Humedad: 50 % +/-10

Período de fotoluminiscencia: 12 Horas de luz y 12 Horas de oscuridad

Periodo de tiempo: 15 días de ambientación.

2.7.2 Etapa 2: Modelo experimental

En la siguiente tabla se indica los ensayos realizados a cada grupo con tres repeticiones para determinar la actividad cicatrizante de extractos de la Hierba Mosquera (*croton elegans kunh*). Los

animales de experimentación fueron seleccionados aleatoriamente para formar 6 grupos de tres ratones que servirán como, Control Negativo, Control Positivo y Experimento Neto.

Medir cada día la cicatrización de los dorsos de los ratones mediante la observación. Aplicar el principio de las 3 R (reducción, refinamiento y reemplazo), para el estudio se utiliza 18 animales de experimentación.

CUADRO N°2-1. Diseño experimental para el Análisis del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*)

TRAMIENTO						
GRUPO	Negativo	Positivo		Extracto 20%	Extracto 40%	Extracto 80%
	GCN	GCE	GCL	GCE ₁	GCE ₂	GCE ₃
	GCN	GCE	GCL	GCE ₁	GCE ₂	GCE ₃
	GCN	GCE	GCL	GCE ₁	GCE ₂	GCE ₃

Fuente: Muñoz A.,2013

Dónde:

GCN: Grupo Control Negativo, heridas sin tratamiento

GCL: Grupo Control Positivo, aplicación de la crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina.

GCE: Grupo Control Positivo, aplicación del eterol.

GEC1: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 20%

GEC2: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 40%

GEC3: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 80%

2.7.3 Etapa 3: Producción de las heridas en los dorsos de los ratones

- ✓ A todos los animales de experimentación depilar los dorsos para tener una mejor visibilidad de la herida y para evitar posibles infecciones.
- ✓ El día dos desinfectar los dorsos de los ratones, para proceder a colocar el anestésico en este caso fue lidocaína con epinefrina.
- ✓ Realizar la herida de 2 cm y 2mm de profundidad.

Aplica los tratamientos de cada grupo: el blanco, la crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina.

- ✓ Esterol, extractos al 20%, 40%, 80%
- ✓ Al siguiente día observar la evolución de la cicatrización.
- ✓ Calcular las diferencias de tamaños de la herida, sacando el promedio.
- ✓ Progresivamente observar la efectividad del mejor tratamiento de los extractos con los grupos control.

2.7.4 Etapa 4: Tratamiento

- ✓ Al grupo control negativo (GCN) se le produjeron las heridas, pero no tuvo ningún tratamiento
- ✓ Al grupo control positivo (GCL) se lo trato con la crema a base de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina por vía tópica con ayuda de un hisopo.
- ✓ Al grupo control positivo (GCE) se lo trato con eterol (1g fenol y 0,4g violeta de genciana) por vía tópica, con una dosis de tres gotas sobre la herida.
- ✓ GEC1: Grupo Experimental del Extracto al 20% , se le aplico 3 gotas del extracto hidroalcohólico de hierba Mosquera (*Croton elegans kunt*)
- ✓ GEC2: Grupo Experimental del Extracto 40%, se le aplico 3 gotas del extracto hidroalcohólico de hierba Mosquera (*Croton elegans kunt*)
- ✓ GEC3: Grupo Experimental Extracto80% , se le aplico 3 gotas del extracto hidroalcohólico de hierba Mosquera (*Croton elegans kunt*)

Se tomara la longitud de la herida con una regla o cinta métrica por el lapso de 16 días cada dos días hasta que haya desaparecido la costra.

2.8 Examen Histopatológico

Al culminar el tratamiento que se les dio a los ratones (*mus musculus*) con las heridas ya curadas, se procede

- ✓ La eutanasia de los animales de experimentación.
- ✓ Al corte de la piel en el lugar donde se produjo la herida.
- ✓ Las muestras fueron colocadas en frascos herméticos con formol para su posterior corte histológico.
- ✓ Tratamiento de las muestras y fijación en placas en SOLCA.
- ✓ Se procede al análisis microscópico con la colaboración del Dr. Javier Robles.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Control de calidad de la droga cruda o materia prima

Cuadro N°3-2. Resultados de control de calidad de la droga cruda Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*), Laboratorios de fitoquímica. Facultad de Ciencias, ESPOCH. Abril 2015.

PARÁMETRO	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES SEGUN LA NEFT %
Determinación de humedad	67%	8-14
Determinación de cenizas	4%	Hasta 12
Determinación de cenizas solubles en agua	0,9%	Hasta 7
Determinación de cenizas insolubles en ácido.	0,7%	Hasta 5

Fuente: Cristina E. Tigse M., 2015

La Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*) una vez recolectada se procede a lavar, secar para triturlarla y finalmente realizar el extracto a utilizar. Así se realizaron los análisis físico- químicos, en el cuadro N°3-2 humedad que presenta la planta es relativamente alta con un 67% , lo cual se ve propensa a sufrir proliferación de bacterias alterando los metabolitos de la misma, los datos de cenizas 4% , cenizas solubles en agua 0,9% y cenizas insolubles en ácido 0,7%, muestran valores relativamente bajos dejando en evidencia la carencia de minerales esto nos quiere decir que el vegetal se encuentra en un suelo libre de contaminantes, en referencia a los datos tomados de la USP # 28 y la Real Farmacopea Española.

3.2. Tamizaje fotoquímico de los extractos.

Cuadro N°3-3 Resultados de análisis cualitativo (Tamizaje Fitoquímico) de la Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Abril 2015

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ETANÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Aceites – Grasas	Sudan	+ (color rojo paredes)		
Lactónas – Cumarinas	Baljet	+ (↓)		
Alcaloides	Dragendorft		+++ (↓)	+
Alcaloides	Mayer		+	
Alcaloides	Wagner	(↓)	Turbidez color café	
Flavonoides	Shinoda		Cambio de color(+)	+ (dos fases)
Azúcares reductores	Fehling			↓ rojo
Grupo de flavonoide-antocianos	Antocianos		+ (dos fases)	

(↓= precipitación), (+) baja evidencia, (++) moderada evidencia, (+++) alta evidencia.

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

El tamizaje fitoquímico da un aporte cualitativo para identificación de los metabolitos secundarios que poseen la planta, siendo rápida y reproducible, utilizando solventes adecuados, mediante la aplicación de reacciones sensibles de color y precipitación.

Para mayor facilidad de identificación de metabolitos secundarios se realizó tres extractos diferentes ya que presenta características indistintas con respecto a la polaridad y solubilidad. Extracto etéreo ayuda a la identificación compuestos liposolubles como, ácidos grasos, alcaloides. Extracto etanólico muestra alcaloides, flavonoides, antocianos. Extracto acuoso identifico alcaloides, azucres, flavonoides, por su gran polaridad. Siendo factible proseguir con la investigación ya que los compuestos que dan la actividad cicatrizante están presentes, flavonoides, alcaloides, los más principales.

3.3 Control de calidad del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*)

3.3.1 Determinación de requisitos organolépticos del extracto Hidroalcohólico.

Tablas N° 3-5 Análisis organoléptica del extracto Hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*) Laboratorio de fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Abril 2015

PARAMETRO	EXTRACTO ETANÓLICO
Aspecto	Líquido
Color	Café fuerte
Olor	Herbal
Sabor	Dulce

Fuente: Cristina E. Tigse M., 2015

La Tabla 3-6 muestra características propias del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*), la misma que presenta un sabor dulce por la presencia de azúcares, olor herbal, el color es una mezcla de verde con café oscuro, de aspecto líquido, parámetros individualizado ya que cada extracto tiene sus propias características por diferencia de especie, composición y tiempo de maceración.

3.3.2 Determinación de los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico.

Cuadro N° 3-4 Determinación de los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*) Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Abril 2015

Parámetro	Valor			
	20%	40%	80%	Extracto madre
Ph	7,13	6.96	6.90	6.70
Densidad Relativa	0,99	1,00	1,00	1,00
Índice de Refracción	1,0508	1,0466	1,0159	1,0267
Sólidos totales	3,89	3,45	3,50	3,39

Fuente: Cristina E. Tigse M., 2015

En el siguiente Cuadro N° 3-3, expresa parámetros físicos de los extractos hidroalcohólicos a una concentración del 20%, 40%, 80% y el extracto madre. El pH del extracto madre fue 6.70, de las concentraciones al 20% pH 7,13, 40% pH 6,96 y 80% pH 6,90 manteniendo una relación entre los datos obtenidos, con un pH casi neutro, factible para el uso en la piel de los animales de experimentación, ya que según bibliografía el pH de la piel humana va de 5 a 6.

El índice de refracción obtenido en los extractos tiene una relación con el índice de refracción del agua 1.333, dándonos a conocer posibles sustancias disueltas en los mismos.

Los sólidos totales un indicativo que están presentes varios metabolitos secundarios, por la gran cantidad de sales y residuos orgánicos, como en la mayoría de datos obtenidos se divisa la correlación de los extractos uno con respecto al otro.

3.3.3. Análisis microbiológico

Cuadro N°3-5 Identificación de microorganismo

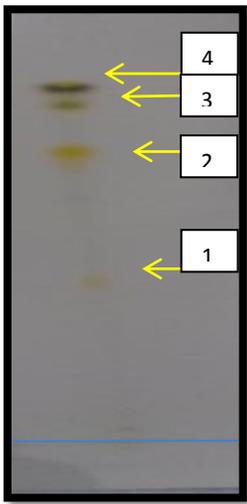
GCN	Coliformes totales	Ausencia	10UFC/mL
GCL	Moho y levaduras	Ausencia	< 10UFC/mL
GCE			
GEC1	Aerobios mesófilos	Ausencia	10 ³ UFC/mL
GEC2			
GEC			

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

Los resultados del análisis microbiológico demuestran la ausencia de Coliformes totales, moho y levaduras, aerobios mesófilos de los extracto al 80%, 40%, 20%, y el extracto madre, estando libres de microorganismos. Tomando como referencia la UPS # 28 se dice que el extracto es apto para la uso experimental ya que se encuentra en el rango especificado el Cuadro N° 3-4.

3.4 Análisis Cromatográfico

Cuadro N° 3-6 Análisis de los Rf de la cromatografía en papel cromatográfico del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*). Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Mayo 2015

 <p>Las placas fueron de 2cm de ancho por 10cm de largo</p>	Manchas Observadas	Calculo del Rf	Compuesto
	N°1	$Rf = \frac{4,5}{6} = 0,7$	Ácido isoclorogénico
	N°2	$Rf = \frac{3,5}{6} = 0,6$	Ácido isoclorogénico
	N°3	$Rf = \frac{2}{6} = 0,3$	Quercetina
	N°4	$Rf = \frac{1,9}{6} = 0,3$	Quercetina

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

Como podemos evidenciar en el cuadro N ° 5 en el análisis cromatográfico calculando los Rf y según WAGNER, H.1996 tenemos que la Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*) posee flavonoides como Quercetina , además posee ácido isoclorogénico, lo cual confirma lo expuesto según el análisis cromatográfico.

3.5 Cuantificación de flavonoides totales (método del AlCl₃)

Cuadro N°3- 7 Determinación de la concentración de flavonoides totales anunciados en ug del estándar Rutina/g, en el extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*). Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2015

Absorbancia	Concentración en ppm(ug de rutina/mL de extracto)	Contenido de flavonoides totales expresados en µg de rutina por g de muestra
0,676	80	320

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

Se utilizó como estándar a la Rutina con una longitud de onda de 400 nm para así determinar la presencia de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*), este dato se lo obtuvo mediante la determinación de espectroscopia ultra violeta al realizar una curva de calibración con diferentes concentraciones, se muestran en el ANEXO N°6

El contenido total de flavonoides expresado con respecto a la Rutina fue un valor alto 80 ug , siendo un resultado buen resultado ya que se esperaba gran contenido de flavonoides para que cumpla la actividad cicatrizante como una de sus principales funciones que posee la rutina como estándar para la cuantificación de la misma.

3.6 Cuantificación de compuestos Fenólicos (micrometodo de Folin- ciocalteau)

Cuadro N°3-8 Determinación de la concentración de compuestos fenólicos totales expresados en µg el micrometodo de Folin- ciocalteau de muestras en el extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*) . Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Mayo 2015

Absorbancia	Concentración en ppm(ug de ácido Gálico /mL de extracto)
0,059	2,0715

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

Se utiliza como patrón al ácido Gálico con una longitud de onda de 400 nm mediante el método de Folin-Ciocalteau para así determinar la presencia de compuestos fenólicos en el extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*), este dato se lo obtuvo mediante la

determinación de espectroscopia ultra violeta al realizar una curva de calibración con diferentes concentraciones, se muestran en el ANEXO N°7

El contenido total de fenoles expresado con respecto al ácido Gálico fue de 2,0717ug , poniendo en evidencia la actividad cicatrizante de la planta a investigar Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*).

Cuadro N°3-9 Determinación de la concentración de compuestos Tánicos totales expresados en µg de ácido Tánico/g de muestras en el extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*). Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Mayo 2015

Absorbancia	Concentración en ppm(ug de ácido Tánico /mL de extracto)	Contenido de fenólicos totales expresados en µg de ácido Tánico por g de muestra
0,152	6,0909	24.3636

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

El contenido total de fenoles expresado con respecto al ácido Tánico fue de 24,3636ug , poniendo en evidencia la actividad cicatrizante de la planta a investigar Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*).

3.7 Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de la Hierba Mosquera (*Crotón elegans kunk*). En ratones (*mus musculus*)

Cuadro N° 3-10 Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunk*), evaluada mediante la media de cicatrización y longitud.

GRUPO	CICATRIZACION (días)	LONGITUD(cm)
GEC3	8 ± 0,4	0,91 ± 0,045
GEC2	10 ± 0,5	0,85 ± 0,010
GEC1	14 ± 0,7	1,11 ± 0,048
GCE.	11 ± 0,6	1,13 ± 0,022
GCL	13 ± 0,7	1,12 ± 0,035
GCN	15 ± 0,8	1,16 ± 0,037

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

Para la evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera (*Crotón elegans kunt*) se codifico de la siguiente manera:

GCN: Grupo Control Negativo, solo se le realizaron las heridas sin tratamiento

GCL: Grupo Control Positivo, aplicación de la crema de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina sobre la herida.

GCE: Grupo Control Positivo, aplicación del eterol sobre la herida.

GEC1: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 20%

GEC2: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 40%

GEC3: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 80%

En el cuadro N° 9 Se divisa que la mejor cicatrización en menor tiempo fue el Grupo experimental del extracto hidroalcohólico al 80% con mayor efectividad, a comparaiion de los otros dos extractos al 40% y 20%, del grupo control negativo (sin tratamiento) y el grupo control positivo (eterol y crema de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina) que poseen mayor número de días para completar la cicatrización y teniendo valores casi secuenciales por día.

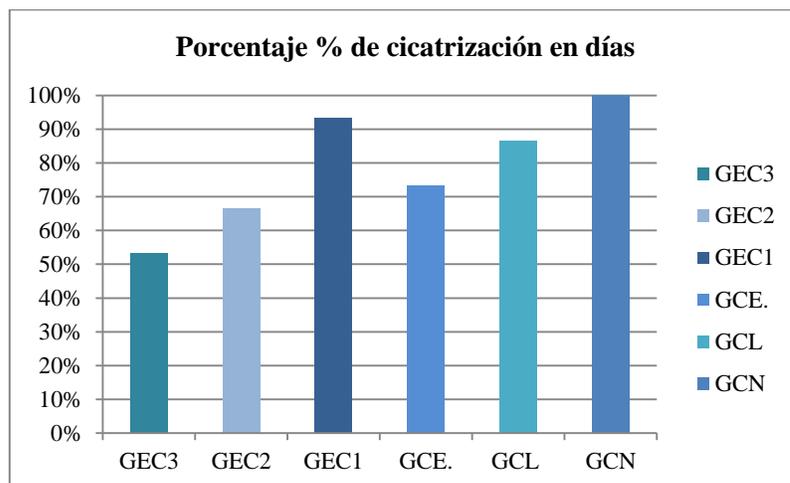
3.7.1. Reducción de tiempo de cicatrización

Cuadro N°3-11 Reducción en porcentaje de los tiempos de cicatrización de cada grupo. Biotério. Facultad de ciencias. ESPOCH. Mayo 2015

Grupos	Días	Porcentaje %
GEC3	8	53%
GEC2	10	67%
GEC1	14	93%
GCE.	11	73%
GCL	13	87%
GCN	15	100%

Fuente: Cristina E., Tigse M.,2015

Grafica N°3-1 Cicatrización Vs Días



Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

El porcentaje de cicatrización de las heridas con respecto a los días va correlacionada, ya que a menos días mejora la cicatrización, como se puede notar en el cuadro N°10, expresado de mejor manera en porcentaje. El GEC3 representa el 53% menos días de cicatrización de allí va aumentado los días de cicatrización, el GEC2 con un 67% que viene hacer 10 días, el sigue el GCE con 73% 11 días, GCL con 87% con 13 días, y por último fue el GCN que culmina con un total de 15 días de cicatrización ósea un 100% de plazo estimado de una cicatrización sin tratamiento.

3.7.2. Longitud de cicatrización de cada grupo

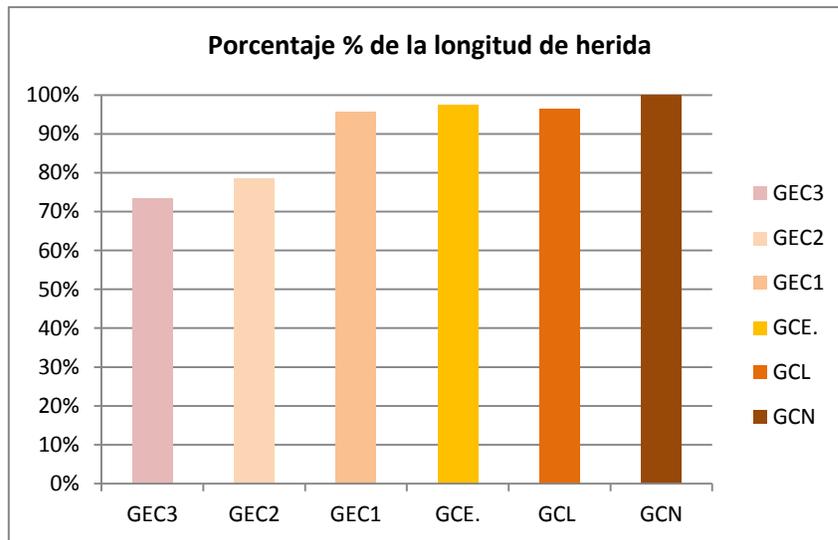
Cuadro N°3-12 Longitud de cicatrización de cada grupo.

Biotério.Facultad de ciencias. ESPOCH. Mayo 2015

Grupos	Longitud	Porcentaje %
GEC3	0,85	73%
GEC2	0,91	78%
GEC1	1,11	96%
GCE.	1,13	97%
GCL	1,12	97%
GCN	1,16	100%

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

Grafica N°3-2 Cicatrización Vs Longitud de la herida



Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

La Figura N°11 demuestra la correlación secuencial que ha ido teniendo el tamaño de la herida en relación a la cicatrización, un tamaño de 0.85cm equivale 73% que viene a ser una cicatriz pequeña mientras tanto las otras heridas no tienen un reducción de tamaño significativo, el GEC2 tiene 0,91cm con 78%, GEC1 presenta 1,11 cm que es el 96%, el GCE presenta 1,13 cm que es igual al 97%, GCL con 1,12cm que viene a ser el mismo porcentaje que el grupo anterior, por último el GCN como es evidente casi no existió reducción del tamaño de la herida pero si éxito cicatrización con un 1,16cm equivalente al 100%.

3.8 Análisis estadístico

Se aplica el test ANOVA y Test de Tukey con nivel de significancia de $p < 0,05$

3.8.1 ANOVA de un factor para los días de cicatrización

Cuadro N°3-13 Análisis estadístico de los resultados con respecto a los días de cicatrización.

Biotério de la facultad de Ciencias. ESPOCH .Junio 2015

ANÁLISIS DE ANOVA(Días)						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	96,94	5,00	19,39	14,54	0,00	3,11
Dentro de los grupos	16,00	12,00	1,33			
Total	112,94	17,00				

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

El presente cuadro **N°3-13** El test ANOVA con un 0,05 de nivel de significancia mencionamos que **p** es menor al nivel de significancia por lo cual se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, puntualizando que al menos dos tratamientos aplicados son diferentes.

3.8.2. Test de Tukey

Cuadro N°3-14 Análisis estadístico de los resultados con respecto a los días de cicatrización con la aplicación del Test de Tukey. Biotério de la facultad de Ciencias. ESPOCH .Junio 2015

Días				
HSD Tukey ^a				
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Extracto 80%	3	8,67		
Extracto 40%	3	10,00		
Eterol	3	11,00	11,00	
Crema de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina	3		13,33	13,33

Extracto 20%	3			14,33
Cont. Neg.	3			15,00
Sig.		,206	,206	,518
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.				

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

El test de Tukey con un nivel de significancia 0,005 revela que el extracto de mayor efectividad es el de 80% con 8,67 días en promedio, a continuación está el extracto al 40% y Eterol con 10 y 11 días de cicatrización respectivamente, los grupos restantes extracto al 20%, crema de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina y el control negativo tienen un comportamiento homogéneo.

3.9 Análisis histopatológico de las pieles de los animales de experimentación.

Tabla N°3-6 Análisis macroscópico

Examen macroscópico	
Código	Características
GCN: Grupo Control Negativo, solo se le realizaron las heridas sin tratamiento	Largo: 1,2cm Ancho: 0,3cm Profundidad: Ninguna /superficie Color: blanco Aspecto: liso Trayectoria: longitudinal
GCL: Grupo Control Positivo, aplicación de la crema de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina sobre la herida.	Largo: 2,8cm Ancho: 2,5cm Profundidad: Ninguna /superficie Color: blanco Aspecto: liso Trayectoria:
GCE: Grupo Control Positivo, aplicación del eterol sobre la herida.	Largo: 2,8cm Ancho: 1,5cm Profundidad: Ninguna /superficie Color: blanco Aspecto: liso Trayectoria:
	Largo: 2,5cm

GEC1: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 20%	Ancho: 0,15cm Profundidad: Ninguna /superficie Color: blanco Aspecto: liso Trayectoria:
GEC2: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 40%	Largo: 2,5cm Ancho: 0,18cm Profundidad: Ninguna /superficie Color: blanco Aspecto: liso Trayectoria:
GEC3: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólico 80%	Largo: 2cm Ancho: 0,15cm Profundidad: Ninguna /superficie Color: blanco Aspecto: liso Trayectoria: longitudinal

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

Los datos obtenidos mediante el análisis macroscópico de la piel diseccionada evidencian el porcentaje de cicatrización y regeneración que ha sufrido la piel porque casi no se vio huellas de la herida. Como fue en el caso del extracto hidroalcohólico al 80% que la piel ya estaba casi cubierta de pelaje y sin huella de la herida.

Tabla N° 3-7 Análisis microscópico

Examen microscópico						
Código	MMN	Histocitos	Edema	Fibras de colágeno	Tejido conectivo	Tejido cicatricial
GEC3 (Macho)	+	-	++	++	100	90
GEC2 (Macho)	+	-	-	++	80	90
GEC1(Macho)	+	-	-	++	50	80
GCE.	+	-	+	++	80	100
GCL	+	-	-	++	100	80
GCN	+	-	++	-	60	100

Fuente: Cristina E., Tigse M., 2015

Mediante el análisis microscópico de las placas elaborados en base a la piel se nota claramente los tejidos reconstituidos interiormente, siendo favorable el extracto hidroalcohólico seguido del extracto al 40%.

CONCLUSIONES

- ✓ Se elaboró un extracto de Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*) con calidad mediante procedimientos de higiene, los mismos que constan de 20 g. de planta seca previamente tratada y triturada, con 150mL de alcohol al 40% el mismo que se lo obtuvo mediante la dilución del alcohol potable con agua destilada(40%). La muestra se la coloco en un recipiente adecuado forrado con papel aluminio para que esté libre de la luz del medio, y se proceda al proceso de maceración que consta de siete días.
- ✓ Mediante la realización y análisis del tamizaje fitoquímico se determinó los siguientes compuestos químicos: alcaloides (++++= alta evidencia), flavonoides (+ = baja evidencia), azúcares (+ = baja evidencia), ácidos grasos (- =) y por ultimo lactonas y cumarinas, en especiales denota la presencia de los flavonoides que darán la actividad cicatrizante a la investigación propuesta. Estos estuvieron indistintamente en los diferentes extractos tanto etéreo, acuoso como alcohólico.
- ✓ Con las pruebas de calidad se verifico que Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*) presenta Humedad: 67% la misma que posee mayor contenido de agua a comparación con lo establecido, cenizas: 4%, cenizas solubles en agua:0,9%, cenizas insolubles en ácido.: 0,7% los demás parámetros se encuentran dentro del rango que especifica la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos.
- ✓ Se comprobó el efecto cicatrizante de la Hierba Mosquera (*Croton elegans kunth*) en heridas provocadas a ratones (*mus musculos*), con ayuda de los productos de referencia crema de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina,eterol y el control negativo, notándose claramente que el tratamiento efectivo fue el extracto hidroalcohólico de Hierba Mosquera a una concentración del 80% ya que se dio una reconstitución de tejido más pronta, sin dejar de lado las otras concentraciones que fue decreciente su actividad con respecto al tiempo.

RECOMENDACIONES

- ✓ La manipulación de los animales de experimentación deben ser con todas las normas de seguridad para evitar contaminación tanto del manipulador como del animal.
- ✓ Los animales de experimentación debe cumplir el tiempo de quince días de ambientación, para así alcanzar casi en su totalidad las misma características de todos los animales (peso, alimentación, ambiente: temperatura, luz, limpieza), para que no difiera en los resultados posteriores.
- ✓ En la fase de depilación del ratón (*mus musculo*), utilizar crema depilatoria previo hacerle un prueba de sensibilidad ya que la piel del animal puede sufrir daño alérgico, limitando el tiempo de realización de la herida.
- ✓ En la fase de la inducción a la herida del animal de experimentación, colocar suficiente anestésico(lidocaína) en un tiempo recomendado de 5min para que cumpla el efecto esperado evitando el sufrimiento del animal, mientras tanto se debe sacar una plantilla(2cm) del tamaño de la herida para optimizar el tiempo del corte a los demás animales de experimentación.
- ✓ Llevar un registro de los suceso desde la fecha del corte que se realizado y la primera aplicación de los extractos (20%, 40%,80%) y el control (crema de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina), para evaluar los suceso tanto de la efectividad de los extractos como del grupo control.

BIBLIOGRAFIA

ALONSO, J., *Tratado de fitomedicamentos y Nutraceuticos.*, Buenos Aires-Argentina., Abya-Yala., 2003., pp.684-689

AYAMBO, L., *Optimizacion del proceso de extracción etanolico de Lepidium peruvianum Chacón, "maca"*. (Tesis Pregrado)(Química Farmaceutica), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela de Farmacia y Bioquímica., Lima-Perú., 2006, pp. 5-8.

ÁLVAREZ, J., *Tanino: La revolucion enológica mito o realidad.*(Enología).,Vol. 2 N°2., España-Madrid., 2007.,pp.2-3.

AYNAGUANO, M., *Evaluacion de la actividad cicatrizante de extractos de Bolsa de Pastor (Capsella bursa-pastoris) mediante el test de heridas inducidas en ratones (Mus musculus)*. (Tesis Pregrado)(Bioquímica Farmaceutico).Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador., 2014., pp.37-43

ALCOCER, A., *Remington Farmacia* Tomo 1., Madrid –España., Editorial Médica Panamericana S.A., pp. 200- 2003. [Consultado: 2015-04-12]. Disponibles en: <https://books.google.com.ec>

ARANGO, G., *Alcaloides y compuestos nitrogenados.*, Medellin- Colombia ., 2008., p.5. [Consultado: 2015-04 –15]. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/alcaloides.pdf> .

BARRIONUEVO, A., *Evaluación del extracto etanólico de Mosquera (Croton Elegans), en concentraciones de 10%,20%, y 30% a dosis de 2, mL; en cicatrización post-quirúrgica en ovario histerectomía en caninas mestizas en el centro de gestión zonal animal de Carapungo en el Distrito Metropolitano*. (Tesis Pregardo) (MedicinaVeterinario Zotecnista.) Universidad Técnica de Cotopaxi., Cotopaxi-Ecuador., 2011., pp.9-12

BARBUL, A, & ERON, D., *Cicatrización de heridas.* En Brunicardi C. Schwartz. Principios de Cirugía 9na ed., México .Mc Granw -Hill Interamericana., 2011., pp. 210-2015

CAMPOVERDE, L., *Determinación del efecto cicatrizante de las hojas de carne humana (Jungla cf.rugosa).* , (Tesis Pregrado) (Bioquímica Farmaceutico).Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas. Bioquímica y Farmacia, Cuenca- Ecuador., 2008., pp.43-65.

CHIAPE, A., *Cicatrizacion* ., QUALITY MED LTDA. Bogota- Colombia., 2013. [Consultado:2015-02-20] . Disponible en : http://www.susmedicos.com/art_cicatrices_Chiappe.htm

DOMINGUEZ, M., *Manul de Cirujia Menor.*, Madrid – España., Aran ., 2002, pp., 31, 35-36

DE JESUS,R., *Bioética Animal en Venezuela* (Revista de la Facultad de Farmacia) Vol. 43., N° 5., Venezuela-La Costa ., 2002., pp. 43-44.

BARBERAN , E ., *Proyecto de inversión para la producción y comercialización de cápsulas naturales a base de achochilla para laboratoríos.*, ESPOL. ,Guayaquil –Ecuador., 2009., p 9.

Fernández, K., *Caracterización de Taninos* ., Concepcion – Chile., 2007 . Consultado: 2015-04-20] .Disponible en : <http://www.feng.pucrs.br/laboratorios/taninos/restrito/caracterizacion-taninos.pdf>.

GEFFNER, F., *Introducción a la Inmunología Humana.*,5° ed., Madrid–España., Medica Panamericana S.A., 2005., pp. 230-231.

GUILLERMO, R., *Comprobación del efecto cicatrizante de Peperomia Scutellaefolia R.et.P., aspectos etnofarmacológicos,botánicos y estudio químico.* ., [En línea]). (Tesis Pregrado) (Bioquímica Farmaceutico) ., Universidad Nacional Mayor de San Marcos . Facultad de

Farrmacia y Bio quimica E.A.P de Farmacia y Bioquimica., Lima- Perú., 2002 ., pp.13-16
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1092/1/guillermo_nr.pdf 2015-05-28

GROUP, V., *Vademecum*. Sistema de Información de Drogas.,Cicatrizantes + antibióticos.,
Diprki servicios integrales. [Consultado: 2015-03-25]. Disponible en:
<http://www.vademecum.es/principios-activos-cicatrizantes+%2B+antibioticos-d03ax+p1>.

GONZÁLES, L., *Mundo Roedor* .Tu comunidad de roedores en Hacia Hispana ., 2014.
[Consultado: 2015-04-18.]. Disponible en: <http://www.mundoroedor.com/>.

JÁTIVA, C., *Texto básico de farmacognosia de los vegetales a las medicinas.*, Riobamba-
Ecuador., Editorial ESPOCH., 2010., pp. 9-15

LIFE., *Eterol*. Edifarm., p.1. [Consultado: 2015-06-15]. Disponible en:
http://www.edifarm.com.ec/edifarm_quickvet/pdfs/productos/ETEROL-20150417-095338.pdf.

MARTINES, A., Flavonoides. 2005., pp. 7-8, 20-21. [Consultado: 2015-03-20]. Disponible en:
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>.

MERINO, J., *Fisiologia General*.La piel: Estructura y Funciones, Universidad de
Catabria,2013.,pp. 1-4. [Consultado: 2015-05-05.]. Disponible en:
<http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/fisiologia-general/materiales-de-clase-1/bloque-ii/Tema%2011-Bloque%20II-La%20Piel.%20Estructura%20y%20Funciones.pdf>.

MUÑOS, M., *Evaluacion de la actividad antiinflamatoria de extractos de Santa María(Piper
pertatum) mediante el test de edema inducido en ratas(Rattus novergicus).*

(Tesis)(B,Q,F).Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador. 2013, pp.38-40

OMS., Organización Mundial de la Salud ., Conceptos de productos herbarios., 2015 [Consultado: 2015-04-18.]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es>

PAMPLONA,J., *Salud por las plantas medicinales.*, Safeliz., Madrid-España., 2006, p.12

ORRAS, B. *Cicatrización: conceptos actuales. Acta médica:* 2013. [Consultado :2015-04-18.]. Disponible en: <http://www.actamedicacolombiana.com/anexo/articulos/01-1992-07-.html>.

REDROBÁN, K., “*Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Berro (Nasturtium Officinale) y Llantén (Plantago Major) En Ratones (Mus musculus)*”. (Tesis)(B,Q,F)., Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2012., p.43

RIVERA, V., *Fisiología de la cicatrización.*, 2002. [Consultado: 2015-02-20.]. Disponible en: <http://www.medicosecuador.com>.

SANTANDER, U. *Protocolo Manejo de Heridas.*, 2008., pp.2-3. [Consultado: 2015-02-20.]

Disponible en:

https://www.uis.edu.co/intranet/calidad/documentos/bienestar_estudiantil/protocolos/TBE.01.pdf.

TORTOSA, J., *Conceptos Básicos de Patología Forense.* Palario, Estados Unidos de América. 2012., pp. 25. [Consultado: 2015-05-20] Disponible en: <https://medicinalegalforense.files.wordpress.com>.

TORRES, H., et al., *Usos medicinales de la plantas*- Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador., 4 ed., Quito-Ecuador., Herbario QCA & Herbario AAU., 2008., pp. 1-6

VALER, V., *Cirugía General.*,Universidad de San Marcos., San Marcos-Perú., 2013., [Consultado: 2015-04-25]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/libros/medicina/cirugia/tomo_i/cap_01_heridas%20y%20cicatrizaci%C3%B3n.htm

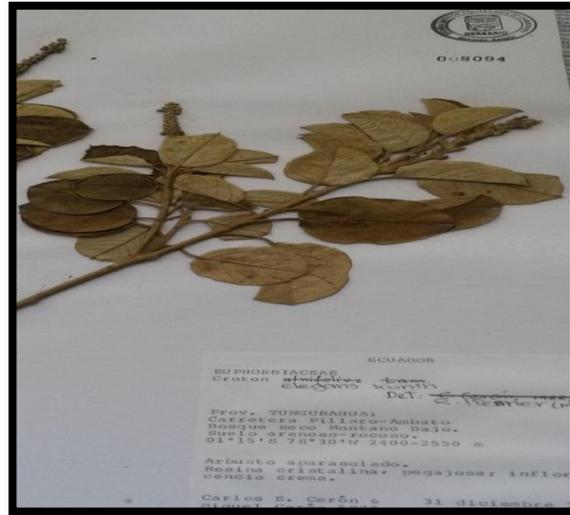
VELÁSQUEZ, Á., *Extracción de taninos presentes en el banano verde.*, Revista Lasallista de investigación., Vol 1. N°2. 2010 ., p.22. .[Consultado: 2015-05-05]. .Disponible en: http://www.lasallista.edu.co/fxcul/media/pdf/Revista/Vol1n2/17_%2022_Extracci%C3%B3n%20de%20taninos%20presentes%20en%20el%20banano%20verde.pdf

WAGNER, H., *Plant Drug Analysis.*2^a ed. A Thin Layer Chromatography Atlas. Berlin-Alemania., Springer. 1996., p.116

WOLFF., *Dermatología en Medicina General.*, 7ma ed., Editorial Medica Panamericana S.A ., Aires-Argentina., 2009. p. 57

ANEXOS

ANEXO A. Identificación de la planta en el herbario de la ESPOCH.



Fotografía N° 1. Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)

ANEXO B. Mapa de la Provincia del Tungurahua



Fotografía N° 2. Cantón Picaigua lugar de procedencia de la muestras Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)

ANEXO C. Tratamiento de la muestras Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)



Fotografía N°3Hábitat de la Hierba Mosquera(*Cronton elegans kunth*)



Fotografía N°4 Muestras seca de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)



Fotografía N°5 Triturado de la Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)



Fotografía N°6 Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*) fraccionada.

ANEXO D. Tamizaje fitoquímico de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)



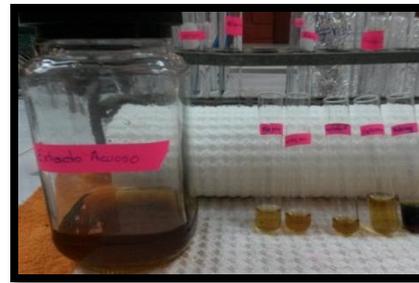
Fotografía N°7 Extractos de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)



Fotografía N°8 Extracto alcoholico de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)



Fotografía N°9 Extracto etéreo de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)



Fotografía N° 10 Extracto acuoso de Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)

ANEXO F. Determinación de parámetros físicos del extracto hidroalcohólico Hierba Mosquera (*Cronton elegans kunth*)



Fotografía N°11 Determinación de pH



Fotografía N°12 Determinación Índice de refracción



Fotografía N°13 Determinación de Densidad



Fotografía N°14 Determinación de Solidos Totales

ANEXO G. Cuantificación de Flavonoides con respecto al estándar Rutina

Concentración	Absorbancia
20	0,327
40	0,393
60	0,572
80	0,665
100	0,815

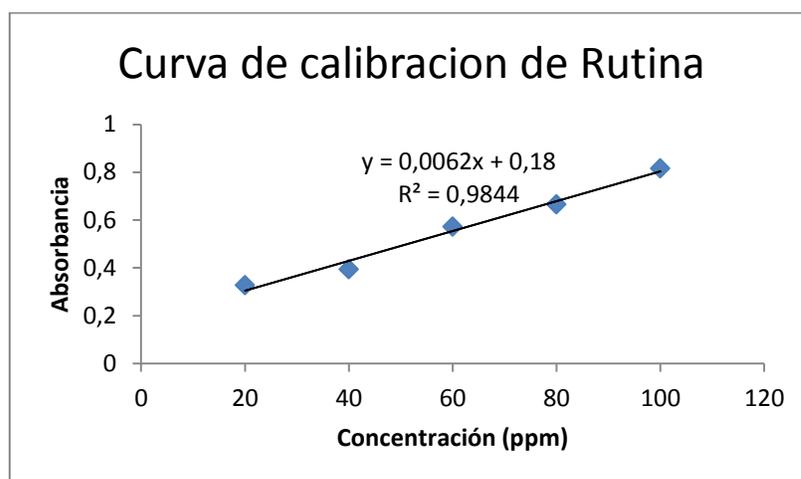


Grafico N° 3 Curva de calibración del estándar Rutina

ANEXO N° 7. Cuantificación de compuestos fenólicos

Concentración (ppm)	Absorbancia
0	0,008
1	0,032
2,5	0,072
5	0,132
7,5	0,184
10	0,228

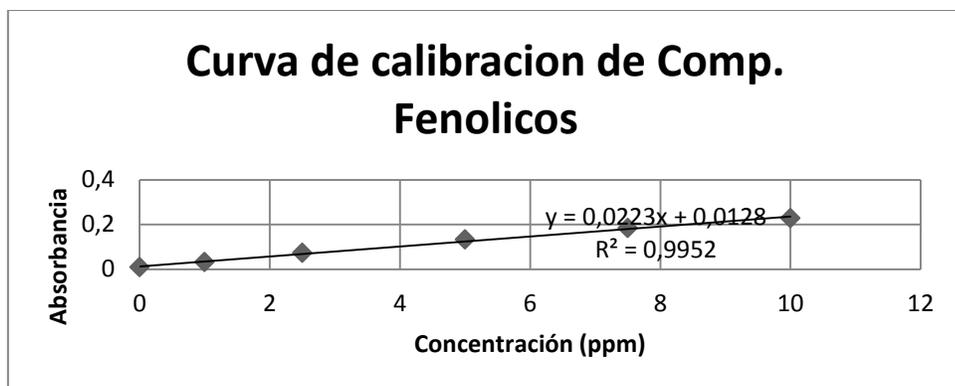
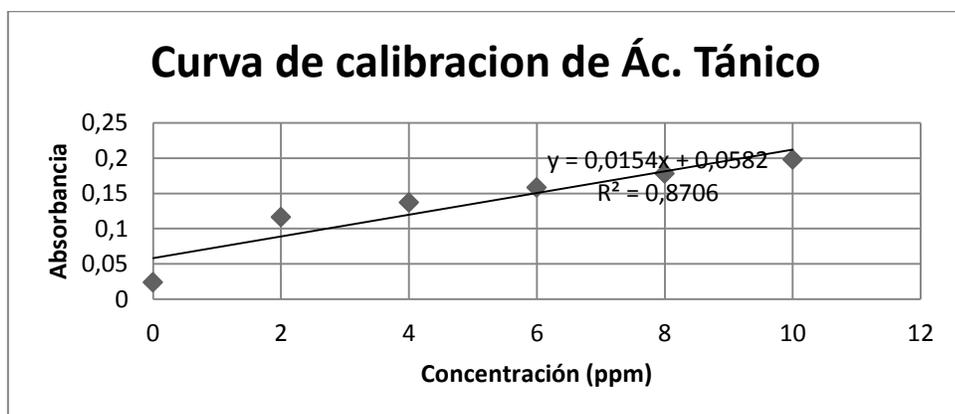


Gráfico N°4 Curva de calibración de compuestos Fenólicos

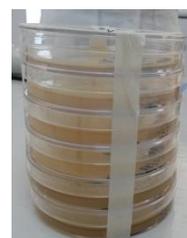
ANEXO H. Cuantificación de flavonoides con respecto al Acido Tánico

Concentración (ppm)	Absorbancia
0	0,024
2	0,116
4	0,137
6	0,158
8	0,178
10	0,198



Gráfica N°5 Curva de calibración del Ácido Tánico

ANEXOS I. Análisis microbiológico de los extractos



Fotografía N°15 Materiales para el análisis microbiológico de los extractos(placas pretri fiells y placas de agar)



Fotografía N°16 Siembra de las



Fotografía N° 17 Resultados de la incubación de los extractos

ANEXO J. Placa cromatografía



Fotografía N° 18 Cromatografías del extracto madre

ANEXO K. Actividad Cicatrizante



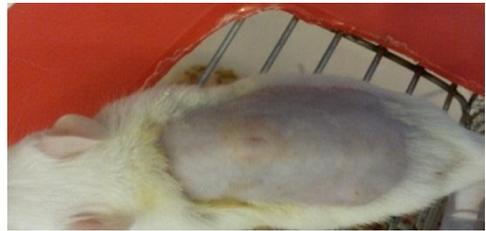
Fotografía N° 19 Materiales para la inducción de la herida en los animales de experimentación



Fotografía N° 20 Depilación del pelaje



Fotografía N° 21 Herida del dorso del ratón



Fotografía N° 22 Cicatrización total

ANEXO L. Análisis histológico



Fotografía N° 23 Eutanasia del ratón



Fotografía N° 24 Disección de la piel



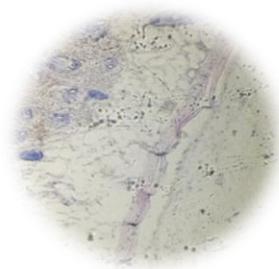


Fotografía N° 25 Muestras en formol

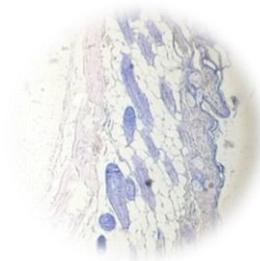


Fotografía N° 26 Placas histológicas

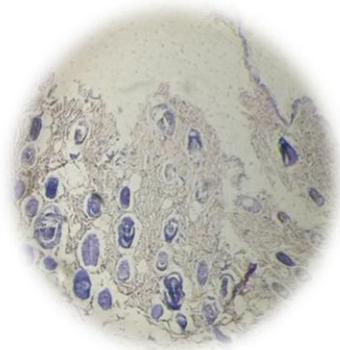
Observación microscópica



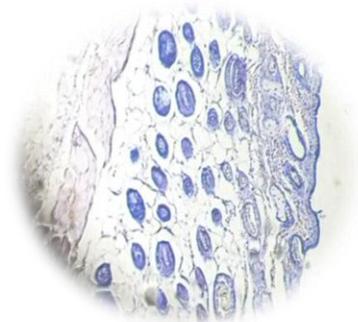
Fotografía N° 27 Muestra extracto
hidroalcohólico al 80%



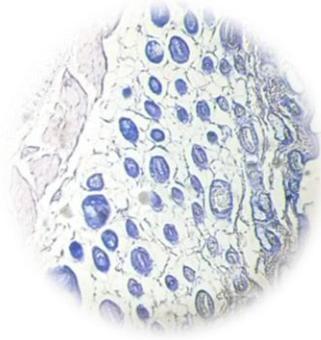
Fotografía N° 28 Muestra extracto
hidroalcohólico al 40%



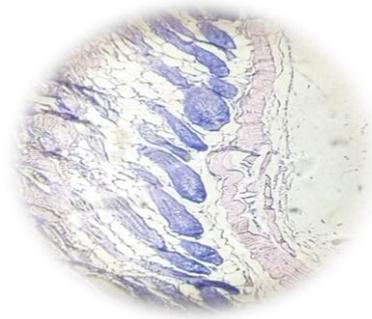
Fotografía N° 29 Muestra extracto
hidroalcohólico al 20%



Fotografía N° 30 Muestra control negativo



Fotografía N° 31 Muestra lamoderm(control positivo)



Fotografía N° 32 Muestra eterol (control positivo)