



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

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE GELES  
ELABORADOS A PARTIR DE EXTRACTOS LIPÍDICOS Y  
ETANÓLICOS DE SANGORACHE (*Amaranthus hybridus L*) SOBRE  
HERIDAS PRODUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*).”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR: DIEGO ENRIQUE SALAZAR ERAZO**

**TUTOR: BQF. DIEGO VINUEZA T. M.Sc.**

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 titulación: “**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE GELES ELABORADOS A PARTIR DE EXTRACTOS LIPÍDICOS Y ETANÓLICOS DE SANGORACHE (*Amaranthus hybridus L*) SOBRE HERIDAS PRODUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)**” de responsabilidad del señor Diego Enrique Salazar Erazo, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

BQF. Diego R. Vinueza T., M.Sc.

**DIRECTOR DE TESIS**

-----

-----

BQF. Fausto Contero

**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

-----

-----

Dra. Elizabeth Escudero

**PRESIDENTA DE TRIBUNAL**

-----

-----

**NOTA TRABAJO ESCRITO**

-----

-----

**DOCUMENTALISTA SISBIB – ESPOCH**

Yo, Diego Enrique Salazar Erazo, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la SECRETARÍA NACIONAL DE EDUCACIÓN SUPERIOR, CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN, INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

---

DIEGO ENRIQUE SALAZAR ERAZO

## CONTENIDO

RESUMEN .....	xi
SUMARY .....	xii
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPITULO I .....</b>	<b>3</b>
<b>1. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Fitoterapia .....</b>	<b>3</b>
<i>1.1.1. Fitoterapia en el mundo .....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.2. Fitoterapia en el Ecuador .....</i>	<i>4</i>
<b>1.2. Sangorache .....</b>	<b>5</b>
<i>1.2.1. Taxonomía .....</i>	<i>6</i>
<i>1.2.2. Composición química y valor nutricional .....</i>	<i>6</i>
<i>1.2.3. Composición Fitoquímica .....</i>	<i>8</i>
<i>1.2.4. Usos medicinales .....</i>	<i>9</i>
<i>1.2.5. Metabolitos de interés farmacológico .....</i>	<i>10</i>
<b>1.3. Piel .....</b>	<b>13</b>
<b>1.4. Cicatrización .....</b>	<b>16</b>
<i>1.4.1. Fase inflamatoria .....</i>	<i>17</i>
<i>1.4.2. Proliferativa .....</i>	<i>19</i>
<i>1.4.3. Remodelación .....</i>	<i>19</i>
<b>CAPITULO II .....</b>	<b>21</b>
<b>2. METODOLOGÍA .....</b>	<b>21</b>
<b>2.1. Materiales, equipos y reactivos .....</b>	<b>21</b>
<i>2.1.1. Muestras Vegetal .....</i>	<i>21</i>
<i>2.1.1.1. Características generales .....</i>	<i>21</i>
<b>2.2. Población de Estudio .....</b>	<b>21</b>
<i>2.2.1. Tamaño de Muestra .....</i>	<i>22</i>
<i>2.2.2. Selección de muestra .....</i>	<i>22</i>
<b>2.3. Material de Laboratorio .....</b>	<b>23</b>

<b>2.4</b>	<b>Técnicas de Recolección de Datos</b>	24
<b>2.5</b>	<b>Obtención de los extractos etanólicos</b>	24
<b>2.5.1</b>	<i>Técnica de maceración</i>	24
<b>2.6.</b>	<b>Obtención de los extractos lipídicos</b>	25
<b>2.7.</b>	<b>Análisis fitoquímico</b>	25
<b>2.7.1.</b>	<i>Determinación cualitativa de Alcaloides – Ensayo de Dragendorff</i>	26
<b>2.7.2.</b>	<i>Determinación cualitativa de taninos- Reacción con solución acuosa o etanólica de FeCl<sub>3</sub></i>	26
<b>2.7.3.</b>	<i>Determinación cualitativa de Aminoácidos libres – Ensayo de Ninhidrina</i>	26
<b>2.7.4.</b>	<i>Determinación cualitativa de Quinonas– Ensayo de Borntrager</i>	26
<b>2.7.5.</b>	<i>Determinación cualitativa de Flavonoides - Ensayo de Shinoda</i>	26
<b>2.7.6.</b>	<i>Determinación cualitativa de Triterpenos y/o esteroides – Flavonoides - Ensayo de Liberman- Buchard</i>	27
<b>2.7.7.</b>	<i>Determinación cualitativa de Antocianidinas</i>	27
<b>2.8.</b>	<b>Determinación de la dosis letal 50 (DL 50)</b>	27
<b>2.8.1.</b>	<i>Determinación DL 50 para extractos etanólicos</i>	28
<b>2.8.2.</b>	<i>Determinación DL 50 para extractos lipídicos</i>	29
<b>2.9.</b>	<b>Ensayo de irritabilidad</b>	30
<b>2.10.</b>	<b>Control de calidad de los excipientes</b>	31
<b>2.10.1.</b>	<i>Agua purificada</i>	31
<b>2.10.2.</b>	<i>Carbopol</i>	32
<b>2.10.3.</b>	<i>Croduret</i>	32
<b>2.10.4.</b>	<i>Dimeticona</i>	32
<b>2.10.5.</b>	<i>Glicerina</i>	33
<b>2.10.6.</b>	<i>Goma xantan</i>	33
<b>2.10.7.</b>	<i>Metil Parabeno Sódico</i>	34
<b>2.10.8.</b>	<i>Propil Parabeno Sódico</i>	34
<b>2.10.9.</b>	<i>Trietanolamina</i>	35
<b>2.10.10.</b>	<i>Tween 80 (Polisorbato)</i>	35
<b>2.11.</b>	<b>Elaboración de los geles</b>	35
<b>2.12.</b>	<b>Control de calidad de los geles</b>	36
<b>2.12.1.</b>	<i>Parámetros organolépticos</i>	36
<b>2.12.2.</b>	<i>Parámetros Físicos</i>	37
<b>2.12.3.</b>	<i>Parámetros Microbiológicos</i>	37

<b>2.13. Evaluación del efecto cicatrizante de los geles de Sangorache</b>	38
2.13.1. <i>Obtención de cortes histopatológicos</i>	39
2.13.2. <i>Evaluación Histopatológica</i>	39
<b>2.14. Análisis e Interpretación de la Información</b>	40
<b>CAPITULO III</b>	41
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	41
<b>3.1. Extractos lipídicos y etanólicos</b>	41
<b>3.2. Análisis fitoquímico del Sangorache</b>	42
<b>3.3. Evaluación de la Dosis Letal 50 (DL50)</b>	42
3.3.1. <i>Evaluación de la DL50 de extractos etanólicos de Sangorache</i>	43
3.3.2. <i>Evaluación de la DL50 de extracto lipídico de Sangorache</i>	44
<b>3.4. Control de calidad de la materia prima</b>	45
3.4.1. <i>Agua purificada</i>	45
3.4.2. <i>Carbopol</i>	46
3.4.3. <i>Goma xantan</i>	46
3.4.4. <i>Dimeticona</i>	47
3.4.5. <i>Croduret</i>	47
3.4.6. <i>Metilparabeno sódico</i>	47
3.4.7. <i>Glicerina</i>	48
3.4.8. <i>Propil parabeno sódico</i>	48
3.4.9. <i>Trietanolamina</i>	49
3.4.10. <i>Tween 80 (polisorbato 80)</i>	49
<b>3.5. Control de calidad del producto terminado</b>	50
<b>3.6. Actividad cicatrizante de los geles de los diferentes extractos</b>	52
<b>3.7. Evaluación histopatológica</b>	58
<b>CONCLUSIONES</b>	61
<b>RECOMENDACIONES</b>	62
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Clasificación Taxonómica de Sangorache .....	6
<b>Tabla 2-1:</b> Grupos fitoquímicos presentes en el Sangorache .....	8
<b>Tabla 3-1:</b> Grupos fitoquímicos en diferentes partes del Sangorache .....	9
<b>Tabla 4-1:</b> Contenido de Flavonoides mg/100 g (Base Seca) .....	11
<b>Tabla 5-1:</b> Perfil de ácidos grasos presentes en el aceite de sangorache (%) .....	12
<b>Tabla 6-1:</b> Contenido de tocoferoles en el Grano de Sangorache .....	12
<b>Tabla 1-2:</b> Denominación de los grupos experimentales .....	22
<b>Tabla 2-2:</b> Equipos utilizados en la investigación .....	23
<b>Tabla 3-2:</b> Reactivos y excipientes utilizados en la investigación .....	23
<b>Tabla 1-3:</b> Rendimiento y características organolépticas de cada extracto .....	41
<b>Tabla 2-3:</b> Análisis fitoquímico de Sangorache .....	42
<b>Tabla 3-3:</b> Resultados de las DL50 de los extractos etanólicos de Sangorache hoja y grano .....	43
<b>Tabla 4-3:</b> Resultado de las DL50 para el extracto lipídico de sangorache grano .....	44
<b>Tabla 5-3:</b> Parámetros y especificaciones para el control de calidad del agua purificada .....	45
<b>Tabla 6-3:</b> Parámetros y especificaciones para el control de calidad del agua purificada .....	46
<b>Tabla 7-3:</b> Resultado del Control de calidad para goma xantan .....	46
<b>Tabla 8-3:</b> Control de calidad para dimeticona .....	47
<b>Tabla 9-3:</b> Control de calidad para croduret .....	47
<b>Tabla 10-3:</b> Control de calidad para Metil parabeno sódico .....	47
<b>Tabla 11-3:</b> Control de calidad glicerina .....	48
<b>Tabla 12-3:</b> Control de calidad Propil parabeno sódico .....	48
<b>Tabla 13-3:</b> Control de calidad de la Trietanolamina .....	49
<b>Tabla 14-3:</b> Control de calidad de tween 80 .....	49
<b>Tabla 15-3:</b> Control de calidad del gel de extracto lipídico .....	50
<b>Tabla 16-3:</b> Control microbiológico del gel de extracto lipídico .....	50
<b>Tabla 17-3:</b> Control de calidad de los geles de extractos etanólicos de hoja y grano de Sangorache .....	51
<b>Tabla 18-3:</b> Control microbiológico del gel de extracto etanólico de hoja y grano de Sangorache .....	51
<b>Tabla 19-3:</b> Promedio de las áreas cicatrizadas durante 15 días .....	53

<b>Tabla 20-3:</b> Área bajo la curva al finalizar el periodo de aplicación de los geles de Sangorache .....	56
<b>Tabla 21-3:</b> Análisis estadístico anova de un factor .....	56
<b>Tabla 22-3:</b> Análisis de varianza .....	57
<b>Tabla 23-3:</b> Test post confirmatorio Dunnett's .....	57
<b>Tabla 24-3:</b> Evaluación histopatológica a los 15 y 21 días después de la aplicación del gel .....	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b> Gráfico Fitoterapia.....	3
<b>Figura 2-1.</b> Sangorache ( <i>Amaranthus hybridus L</i> ).....	5
<b>Figura 3-1.</b> Análisis Proximal de minerales del grano de ataco y diferentes granos....	7
<b>Figura 4-1.</b> Comparación del contenido de aminoácidos (g en 100g de muestra).....	7
<b>Figura 5-1.</b> Estructura de Clorofila.....	10
<b>Figura 6-1.</b> Flavonoide – Rutina.....	11
<b>Figura 7-1.</b> Tipos de Tocoferoles.....	12
<b>Figura 8-1.</b> La piel.....	13
<b>Figura 9-1.</b> Estratos de la Epidermis.....	14
<b>Figura 10-1.</b> Gráfico de la Dermis.....	15
<b>Figura 11-1.</b> Gráfico de la Hipodermis.....	16
<b>Figura 12-1.</b> Fases de Cicatrización.....	16
<b>Figura 13-1.</b> Gráfico de una herida.....	18
<b>Figura 14-1.</b> Fase inflamatoria.....	18
<b>Figura 15-1.</b> Fase Proliferativa.....	19
<b>Figura 16-1.</b> Fase de Remodelación.....	20

## ÍNDICE ANEXOS

- ANEXO A:** OBTENCIÓN EXTRACTO ETANÓLICO
- ANEXO B:** OBTENCIÓN EXTRACTO LIPÍDICO
- ANEXO C:** ANÁLISIS FITOQUÍMICO
- ANEXO D:** DETERMINACIÓN DL 50
- ANEXO E:** PARAMETROS DE OBSERVACIÓN PARA DL50
- ANEXO F:** PARÁMETROS EVALUADOS EN DL 50
- ANEXO G:** ENSAYO PARA IRRITABILIDAD
- ANEXO H:** ELABORACIÓN DE GEL BASE
- ANEXO I:** ELABORACIÓN DE LA FASE OLEOSA
- ANEXO J:** ELABORACIÓN DEL GEL
- ANEXO K:** CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES
- ANEXO L:** EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE
- ANEXO M:** PROCESO PARA LA EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA
- ANEXO N:** REDUCCIÓN DEL ÁREA DE LA HERIDA EN EL PERIODO DE EVALUACIÓN DE 15 DÍAS

## RESUMEN

Se propuso elaborar un gel a partir de Sangorache (*Amaranthus hybridus L*) proporcionado por el Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria (INIAP), con el objetivo de ayudar en el proceso de cicatrización de heridas producidas en ratones (*Mus musculus*). Se obtuvieron extractos etanólicos y lipídicos de hojas y grano de sangorache, aplicando la técnica de maceración, utilizando etanol y hexano respectivamente. Para el extracto lipídico se usó el método de Soxhlet. Posteriormente se realizó el análisis fitoquímico de los extractos mediante la metodología descrita en OLGA LOCK DE UGAZ. La toxicidad fue evaluada a través de la determinación de DL 50 en ratones evaluando su comportamiento durante 7 días. Se realizó el control de calidad de los geles, siguiendo los lineamientos de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 28 y 35). La actividad cicatrizante fue determinada a partir de heridas inducidas en ratones, se formuló geles a 1 y 2% de acuerdo a cada extracto, aplicando el gel dos veces al día por un periodo de 15 días. Los resultados se analizaron con TEST de ANOVA y DUNNETT'S. El gel con extracto lipídico de Sangorache Grano al 2% presentó una diferencia de las medias del 0,177 con respecto al control que es la trolamina, por lo que el gel de Sangorache ayudo a un mejor proceso de cicatrización incluso se podría afirmar que puede llegar a tener mayor efectividad que la trolamina, esto gracias a los aceites grasos que favorecen al proceso de cicatrización. Se concluyó que el gel lipídico de Sangorache grano al 2 % aporta favorablemente para que el proceso de cicatrización se dé en un menor tiempo. Se recomienda que la industria farmacéutica siga con las siguientes fases de la investigación para que este fitofármaco pueda llegar a comercializarse.

**Palabras clave:** <SANGORACHE [ *Amaranthus hybridus L*]>, <RATONES [*Mus musculus*] >, <EXTRACTO LIPÍDICO>, <EXTRACTO ETANÓLICO>, <GEL>, <CICATRIZANTE>, <FITOFÁRMACO>

## SUMMARY

It proposed to develop a gel from Sangorache (*Amaranthus hybridus L*) provided by the Autonomous National Agricultural Research Institute (INIAP), with the aim of helping in the healing process of wounds in mice (*Mus musculus*). Ethanolic extracts and lipid were obtained from grain and leaves of sangorache by applying the maceration technique, using ethanol and hexane respectively. The Soxhlet method was used for the lipid extract. Subsequently the phytochemical analysis of extracts was performed using the methodology described in OLGA LOCK DE UGAZ. The toxicity level was increased by determining DL 50 evaluating mice's behavior for 7 days. After that the quality control of gels was performed following the guidelines of Pharmacopeia (USP 28 AND 35) OF THE United States. The healing activity was determined through wounds induced in mice and formulated gels in 1 and 2% according to each extract applying twice daily for a period of 15 days. The results were analyzed with ANOVA and DUNNETT'S TESTS SHOWING THE FOLLOWING RESULTS. The gel with lipid extract from Sangorache Grain in 2% presented a difference between statistical averages of 0.177 according to the control of trolamina. The Sangorache gel helped to improve the healing process that is why it could be more effective than trolamina, thanks to fatty oils which facilitate to the healing process. It concluded that the lipid gel 2% of Sangorache grain contributes to the healing process providing better response times. It is recommended that the pharmaceutical industry continues with the next phases of the research for this phytodrug gets commercialized.

**Keywords:** <SANGORACHE [*Amaranthus hybridus L*] >, <MICE [*Mus musculus*] >, <LIPID EXTRACT>, <ETHANOL EXTRACT>, <GEL>, <HEALING>, <PHYTODRUG>.

## INTRODUCCIÓN

En el Ecuador no se pueden encontrar medicamentos utilizados para el proceso de cicatrización. Sin embargo el Ministerio de Salud Pública (MSP) proporciona varios medicamentos al sector de salud que ayudan a evitar complicaciones en las heridas más no en el proceso de cicatrización. La Trolamina es el único fármaco que se puede encontrar como cicatrizante en el Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos (CNMB), este es restringido para uso exclusivo de pacientes que tienen quemaduras producidas por radioterapia. (Comisión Nacional de Medicamentos e Insumos, 2013, p. 36)

Las familias de bajos recursos que muchas de las veces dependen del bono de desarrollo humano entregado por el gobierno para sobrevivir, no pueden adquirir este tipo de medicamentos en una farmacia privada ya que su precio es de \$19,22. Si el bono de desarrollo humano es de tan solo 50 dólares (Pérez, 2010, <http://www.discapacidadonline.com/bono-de-desarrollo-humano-informacion-y-datos-importantes.html>). No podrán adquirir el medicamento ya que su economía mensual destinada a la alimentación y otras necesidades básicas se verán disminuidas. Por lo cual, la gente de bajos recursos no utilizan un tratamiento adecuado para las heridas por lo que estas pueden complicarse y derivar en otros problemas de salud más graves.

En la constitución del Ecuador en el artículo 32 se indica que la salud es un derecho que garantiza el estado, el estado garantizara este derecho a través del acceso permanente, oportuno, y sin exclusión a programas, acciones y servicios de promoción y atención integral de salud. Por tal razón para garantizar este derecho, la tendencia actual en cuanto a medicamentos apunta al desarrollo de los fitofármacos, es decir medicamentos que se elaboran en base a compuestos que se pueden extraer de plantas, esta iniciativa abarca un gran número de posibilidades para aprovechar la biodiversidad de nuestro país, el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) está promoviendo la utilización de los granos andinos como el Sangorache, Amaranto, Chocho y Quinoa.

En el Ecuador, las plantas medicinales han sido utilizadas ancestralmente por los pueblos indígenas, como una fuente natural para curar y prevenir enfermedades. Hoy en día, no solo es utilizado por el sector rural sino por el sector urbano. Por su bajo precio, accesibilidad, en especial del sector rural debido a que no tienen acceso completo a medicamentos. (De la Torre et al, 2008, pp.105-114)

El Sangorache ha sido cultivado ancestralmente, este cereal no solo ha sido utilizado en la alimentación, los pueblos aborígenes lo utilizaban por sus propiedades medicinales, como: antiinflamatorias, antiespasmódicas, antibacterianas, cicatrizantes, estas características que presentan se deben a los diferentes grupos fitoquímicos que presenta algunos de estos son: flavonoides, clorofilas, aceites grasos, entre otros que pueden favorecer en las síntesis de colágeno o en el proceso de cicatrización, acelerando este proceso y siendo una alternativa natural a la escases de productos cicatrizantes en nuestro país.

Por lo tanto esta investigación tiene como objetivo evaluar la actividad cicatrizante de geles elaborados a partir de extractos lipídicos y etanólicos de Sangorache (*Amaranthus hybridus L*), sobre heridas producidas en ratones (*Mus musculus*), para lo cual se realizar extractos lipídicos y etanólicos de Sangorache (*Amaranthus hybridus L*), a los cuales se les someterá a un análisis fitoquímico para conocer sus metabolitos secundarios, luego se elaboran los geles cicatrizantes a distintas concentraciones 1% y 2, a los mismos se les realizar el control de calidad, finalmente.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Fitoterapia



**Figura 1-1.** Gráfico Fitoterapia

Fuente: (Pérez, 2015)

El empleo de plantas medicinales es una fuente para prevenir y curar enfermedades. Desde los tiempos más antiguos los ancestros creían en el poder curativo de cada planta. Desde ahí comienza la etapa de uso de plantas medicinales. Según la OMS las plantas medicinales constituyen la esencia de cada cultura. El 80 % de la población depende del uso de las mismas, ya que los pueblos confían en estas. (Villamar y Villavicencio, 2001, <http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/intro.pdf>)

Es así, como la fitoterapia es la ciencia que estudia las sustancias presentes en las plantas con fines farmacológicos. El objetivo de la fitoterapia es conocer los principios activos responsables de curar una enfermedad, con el fin de determinar su estructura química y proponer modificaciones en busca de una mejoría, realizar los estudios correspondientes y presentar una nueva alternativa para la sociedad. (Villamar y Villavicencio, 2001, <http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/intro.pdf>)

### ***1.1.1. Fitoterapia en el mundo***

Se estima que el mercado mundial de fármacos de origen vegetal es de aproximadamente 35 mil millones de dólares anuales. Europa es uno de los continentes que presentan una gran demanda para la utilización de plantas medicinales y aromáticas. Quienes han apreciado la medicina natural como una alternativa saludable, la cual ha comentado a competir con los medicamentos OTC. (Balslev. et al. , 2008, pp.13-56)

Estudios realizados por Euromonitor Internacional en el 2012 las ventas de suplementos/ medicamentos derivados de hierbas naturales tuvieron un aumento del 4% lo que significó un total de 212 millones de Euros. Un claro ejemplo del aumento a la tendencia de consumo de este tipo de productos es que todos los remedios provenientes de hierbas naturales incrementaron su volumen de ventas en el 2012 en un 4% mientras que los medicamentos OTC únicamente crecieron un 3%. (Proecuador, 2014, pp. 16-17)

### ***1.1.2. Fitoterapia en el Ecuador***

La medicina tradicional en el Ecuador se ha desarrollado desde los tiempos más remotos. Desde la antigüedad los precolombinos son quienes utilizaban partes de plantas como medicina curativa y preventiva. El uso fue de acuerdo a las creencias, religión y costumbres dependiendo de la cultura, las cuales son transmitidas de generación en generación y hoy en día muchas de ellas han sido utilizadas para el bienestar de las personas. (Serrano et al, 2013, pp. 183-184)

La acción curativa de cada uno de estos tratamientos ancestrales ha llamado la atención a los investigadores, consiguiendo grandes hallazgos con la medicina ancestral, es así como el interés actual ha aumentado para la fitoterapia. (Serrano et al, 2013, pp. 203-204)

Ecuador tiene diferentes productos médicos realizados a partir de plantas medicinales los cuales han sido muy importantes para la sociedad. Estos son:

- Chinchona: Producto utilizado para la cura del paludismo.
- Curare (Chondodendron spp., Strychnos sp.): Este es un anestésico y modulador biológico.

Birm: producto a partir de la dulcamara (*Psychotria viridis*, *Kalanchoe pinnata* y/o *Solanum dulcamara*) el cual altera el comportamiento biológico de las células cancerígenas y aumenta las defensas corporales, mejorando la calidad de vida del paciente. (Balslev. et al. , 2008, pp.13-56)

## 1.2. Sangorache



**Figura 2-1.** Sangorache (*Amaranthus hybridus L*)

Fuente: (Peralta et al, 2008)

El sangorache (*Amaranthus hybridus L*) pertenece a la familia de las *Amaranthaceas* y en el género *Amaranthus*. En América este fue cultivado y empleado hace más de 4000 años. Este cultivo tuvo mucha importancia en la época prehistórica, pero con la llegada de los españoles se prohibió su uso, por utilizarlo en fiestas paganas. Es Originaria de los Andes de Suramérica, el amaranto adquiere importancia por su alto valor nutritivo y su adaptabilidad en diferentes condiciones ambientales. (Fundación Hogares Juveniles Campesinos, 2005, p. 181)

Su alto valor nutritivo se debe a un balance equilibrado de aminoácidos esenciales, principalmente lisina, metionina y triptófano. Además presenta Amarantina un colorante muy utilizado en la industria alimenticia y textil. Amarantina es soluble en agua y en compuestos polares. (Peralta et al, 2008, pp. 32,45-49)

### 1.2.1. Taxonomía

En la siguiente tabla se da a conocer la identificación taxonómica del sangorache:

**Tabla 1-1.** Clasificación Taxonómica de Sangorache

SANGORACHE	
<b>Reino</b>	Vegetal
<b>División</b>	Fanerógama
<b>Nombre científico</b>	<i>Amaranthus hybridus L</i>
<b>Nombres comunes</b>	Ataco, sangorache, sangoracha
<b>Tipo</b>	Embryophyta siphonogama
<b>Subtipo</b>	Angiosperma
<b>Clase</b>	Dicotiledónea
<b>Subclase</b>	Archyclamidae
<b>Orden</b>	Centrospermales
<b>Familia</b>	Amaranthaceae
<b>Genero</b>	Amaranthus
<b>Especie</b>	<i>Hybridus</i>

Fuente:( Herrera y Montenegro,2012)

### 1.2.2 Composición química y valor nutricional

El sagorache tiene dentro de su composición química como fuente importante las vitaminas como las A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, C, además aporta con proteínas, minerales, ácido fólico, calcio, hierro y fósforo. (Peralta et al, 2008, pp. 32,45-49) Además, es rica en ácidos grasos poliinsaturados como omega-6, omega-3 y el escualeno, que ayuda a disminuir el colesterol en la sangre. También contiene agentes antioxidantes como los tocoferoles (alfa hasta delta) y tocotrienoles. (Herrera y Montenegro, 2012, pp.53-56)

CARACTERÍSTICA	ATACO	AMARANTO BLANCO	QUINUA	ARROZ	MAIZ	FREJOL
Humedad (%)	13.7	11,4	13.7	12,4	11,8	7,5
Proteína (%)	14.3	18,7	13,9	7.6	7.7	21.5
Fibra cruda (%)	13,9	9,8	8,69	2.4	2.4	10.0
E.L.N (%)	61.9	62,2	68,77	84.4	83.2	62,6
Cenizas (%)	3.58	4,6	3,7	3.4	1.7	4.6
Grasa (%)	6.18	4,6	4,95	2.2	5.0	1,21
Calcio (%)	0.30	0,16	0,08	0.02	0.01	0.21
Fósforo (%)	0,61	0,61	0,59	0.18	0.27	0.48
Magnesio (%)	0,35	0,24	0,31	0.08	0.13	0.19
Potasio (%)	0,60	0,60	0,95	0.12	0.48	1.66
Sodio (%)	0.04	0,01	0,01	0.01	0.01	0.01
Cobre (ppm)	10.0	9.0	10.0	4.0	4.0	13.0
Fe (ppm)	68.0	90.0	108.0	34	30.0	98.0
Mn (ppm)	44.0	24.0	36.0	7.0	7.0	11.0
Zinc (ppm)	44.0	42.0	34.0	24.0	24.0	36.0
Energía (Cal/100 g)	361	459	453.08	364	361	361

**Figura 3-1.** Análisis Proximal de minerales del grano de ataco y diferentes granos.

Fuente: Peralta et al, 2008, pp. 32,45-49

La calidad nutricional del sangorache depende de la cantidad de nutrientes, este es considerado como una proteína de buena calidad, por la presencia de aminoácidos esenciales comparados con otros cereales. La FAO ha señalado que una proteína es biológicamente completa cuando contiene todos los aminoácidos esenciales en una cantidad igual o superior a la establecida para cada aminoácido en una proteína de referencia o patrón. (Edel et al, 2007, pp. 248-250). El contenido de proteína presente en el sangorache es de 17,5 a 19%. (Dheltot et al, 2006, pp. 1095-1101).

AMINOÁCIDO	AMARANTO NEGRO INIAP ATACO	AMARANTO BLANCO INIAP ALEGRÍA	QUINUA INIAP TUNKAHUAN	CHOCHO INIAP 450 ANDINO
Acido aspartico	1.23	1.17	1.18	4.59
Treonina	0.42	0.5	0.51	1.23
Serina	1.31	0.88	0.58	2.03
Acido glutámico	2.15	2.67	2.14	10.93
Prolina	0.46	0.54	0.46	1.42
Glicina	1.76	1.26	1.82	1.77
Alanina	0.46	0.53	0.65	1.39
Cistina	0.05	0.12	0.08	0.19
Valina	0.61	0.56	0.64	1.49
Metionina	0.18	0.20	0.15	0.16
Isoleucina	0.46	0.51	0.52	1.82
Leucina	0.71	0.79	0.86	2.75
Tirosina	0.35	0.53	0.44	1.44
Fenil Alanina	0.53	0.59	0.57	1.44
Histidina	0.37	0.39	0.39	1.06
Lisina	0.61	0.80	0.74	1.79
Arginina	1.04	1.27	0.80	3.04

**Figura 4-1.** Comparación del contenido de aminoácidos (g en 100g de muestra).

Fuente: (Peralta et al, 2008)

El contenido de vitaminas presentes en el sangorache es considerado apreciable. El contenido de  $\beta$ -caroteno es de 3,29 mg/100g, es decir presenta valor apreciable además de tener tiamina,

riboflavina, niacina, piridoxina y ácido ascórbico. La vitamina A es necesaria para el mantenimiento de la piel, mucosa membranas, huesos, dientes, pelo, la visión y la reproducción. (Akubugwo, I. E. et al, 2007, pp. 2833-2839)

La tiamina es necesaria para el sistema nervioso y ayuda a liberar energía de los carbohidratos. La riboflavina ayuda a la liberación energía de los alimentos y es esencial para la salud de los ojos, piel, uñas y cabello. La piridoxina ayuda a formar los glóbulos rojos y es necesaria para el metabolismo, reproductiva normal proceso y embarazos saludables. El ácido ascórbico es necesario para los dientes sanos, las encías y los huesos y es esencial para el buen funcionamiento de las glándulas suprarrenales y tiroideas. También, ácido ascórbico es un antioxidante y como tal actúa como desintoxicante. La vitamina E también actúa como un antioxidante y protege las paredes celulares. (Akubugwo, I. E. et al, 2007, pp. 2833-2839)

### 1.2.3 Composición Fitoquímica

El sangorache tiene diferentes metabolitos secundarios, responsables de diferentes acciones farmacológicas. Entre este tenemos el ácido fítico este presenta propiedades antioxidantes y anticancerígenas. Otro compuesto es los Taninos estos presentan propiedades astringentes, antibacteriana y antifúngica. (Gómez, 2013, pp. 10-15). Los principales compuestos encontrados en el sangorache son flavonoides, taninos, fenoles y ácido Fítico. Este último es conocido como un compuesto antinutricional. (Akubugwo, I. E. et al, 2007, pp. 2833-2839)

**Tabla 2-1.** Grupos fitoquímicos presentes en el Sangorache

Ensayo	Sangorache INIAP – Rubí
Sudan	++
Baljet	-
Lieberman Buchard	++
Dragendorff	-
Mayer	-
Wagner	-
<b>Interpretación:</b> Abundante: +++ Moderado:++ Ausencia: -	

**Fuente:** (Guapi, 2013)

**Tabla 3-1.** Grupos fitoquímicos en diferentes partes del Sangorache

<b>Ensayo</b>	<b>Hoja</b>	<b>Grano</b>	<b>Panoja</b>
Catequinas	++	++	+
Boritrager	-	-	-
Fehling	++	++	++
Baljet	++	++	++
Antocianidinas	++	++	+
Lieberman Buchard	+++	+++	++
Cloruro Férrico	++	+	++
Espuma	+	+	-
Ninhidrina	++	++	+
Shinoda	++	++	+
<b>Interpretación:</b> Abundante: +++ Moderado:++ Ausencia: -			

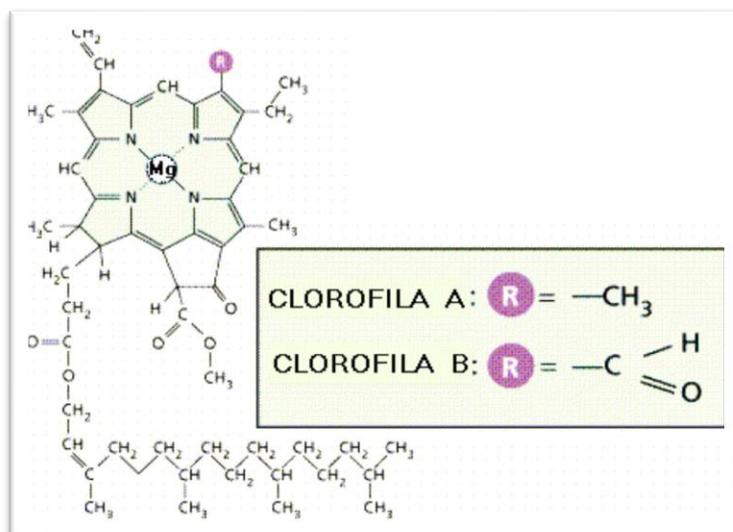
Fuente: (Guapi, 2013)

#### **1.2.4 Usos medicinales**

Entre los principales usos del sangorache se encuentran los siguientes; puede ayudar a prevenir y curar ciertas enfermedades como la osteoporosis, la diabetes mellitus, la obesidad, se usa en la hipertensión, para las personas que sufren de estreñimiento, es apto para celíacos ya que no contiene gluten, otras de sus propiedades son las astringentes, antiinflamatorias etc.(Torres, 2011, <http://www.plantasquecuran.com/plantas-medicinales/romero.html>)

## 1.2.5 Metabolitos de interés farmacológico

### 1.2.5.1 Clorofilas

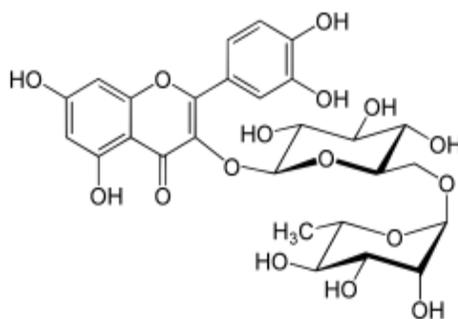


**Figura 5-1.** Estructura de Clorofila

Fuente: (Almez,2005)

La clorofila es aquella que da la pigmentación de color verde de las plantas, a través de un proceso de fotosensibilización la planta recoge la energía de los rayos del sol y de esta forma se elaboran los azúcares, grasas y proteínas que necesita la planta para su crecimiento. Las plantas que poseen clorofila contienen carotenoides y vitamina C. Los carotenos una vez que se consumen se convierten en vitamina A en las células hepáticas. La vitamina A actúa en el proceso de desarrollo de las células corporales y en particular de los epitelios, por lo que en la investigación nos favorecerá su utilización ya que ayudara a regenerar las células en el proceso de cicatrización.

### 1.2.5.2 Flavonoides



**Figura 6-1.** Flavonoide – Rutina

Fuente: (Almez,2005)

Estos son pigmentos hidrosolubles. Que se localizan en las partes aéreas de la planta es decir en sus hojas y flores. (Bruneton, 1993, pp.24-31). Una de las funciones de los flavonoides es defender a la planta de los ataques de microorganismos, protegerla de los rayos Ultra Violeta, y del ataque de insectos. (Marcano y Hasegawa, 2002, pp. 56-58).

Entre las propiedades terapéuticas de los flavonoides se encuentran: antiinflamatorio, cicatrizante, cardiotónica, antitrombótica, antimicrobiana, analgésico, antioxidante, además puede reducir el colesterol.(Ciarlotti, 2013, pp. 301-304). Los flavonoides también benefician la formación de colágeno y ayuda a proteger los vasos sanguíneos de esta manera colabora en el proceso cicatrizante.(Cañigual, 2003, pp. 35-40)

**Tabla 4-1.** Contenido de Flavonoides mg/100 g (Base Seca)

Sangorache	Contenido de Flavonoides mg/100 g
Sangorache Hoja	94,13
Sangorache Grano	2,28

Fuente: Guapi,2014

### 1.2.5.3 Lípidos

Los lípidos pueden ser de origen vegetal o animal. Se almacenan en diferentes partes de la planta. (Ortuño, 2006, pp.228-230). Los lípidos son utilizados en el proceso de cicatrización ya que pueden intervenir en el proceso de agregación plaquetaria, además actúan en los procesos inflamatorios son

mediadores celulares. (Cañigual, 2003, pp. 35-40). El sangorache tiene ácidos grasos, tocoferoles y esteroides.

**Tabla 5-1.** Perfil de ácidos grasos presentes en el aceite de sangorache (%).

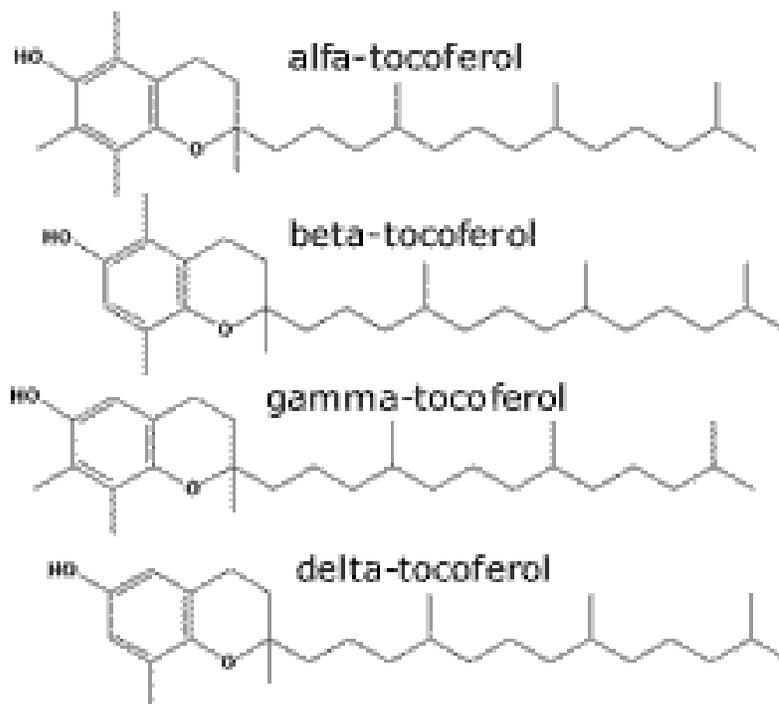
SANGORACHE	AGS		AGM	AGP	
	Palmítico	Estearico	Oleico	Linoleico	Linolenico
	18,38	3,88	27,73	44,25	0,91

Fuente: (Villacrés et al, 2013, pp. 044-053)

**Tabla 6-1.** Contenido de tocoferoles en el Grano de Sangorache

GRANO DE SANGORACHE (ppm)	Tocoferol $\alpha$	Tocoferol $\delta$	Tocoferol $\beta$
	53,50	218,00	569,55

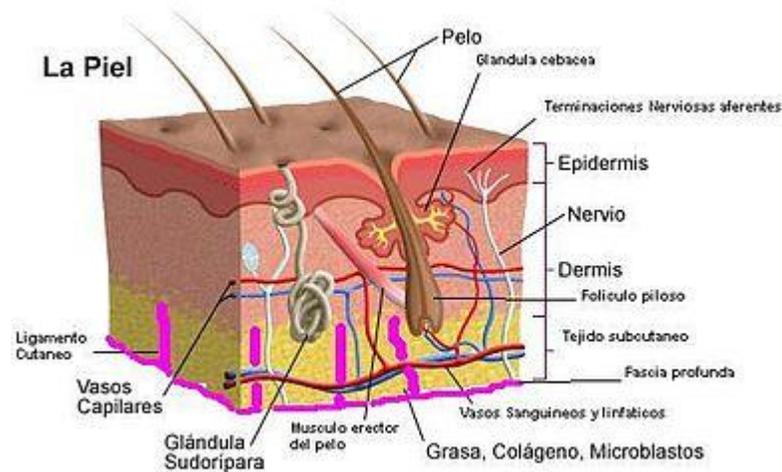
Fuente: (Villacrés et al, 2013, pp. 044-053)



**Figura 7-1.** Tipos de Tocoferoles

Fuente: Akubugwo, I. E. et al, 2007.

### 1.3 Piel



**Figura 8-1.** La piel  
Fuente: (Colaboradores Wikipedia , 2015)

La piel es el órgano más largo del cuerpo humano. Esta es esencial por que proporciona regulación térmica, evita la deshidratación y actúa como barrera frente a sustancias químicas o infecciosas. La piel no es un órgano uniforme, por lo que depende en que sitio se encuentre para su grosor. (Kuhnl, 2005, p. 438). Esta consta con tres capas importantes, las cuales son:

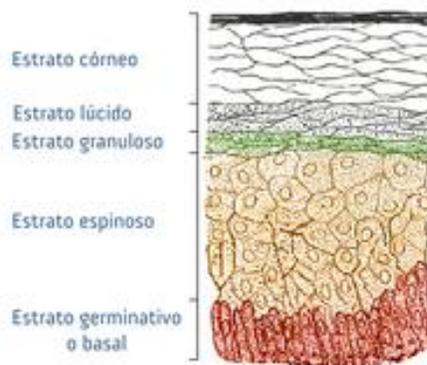
**Epidermis:** Esta capa es superficial formada por células queratinizadas que se originan en el ectodermo. (Sabotta,2006 , p. 369). Estas células son queratinocitos las cuales están unidas entre si por desmosomas. También contiene melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel que se encuentran en sus diferentes estratos propios de la epidermis. . (Sabotta,2006 , p. 550)

En la epidermis se puede encontrar células vivas o muertas y se divide en cinco estratos:

- **Estrato basal:** Es la capa más profunda de la epidermis. También llamado estrato germinativo. Aquí se encuentra el origen de las células epiteliales, las cuales siempre están en constante división desplazando hacia los demás estratos las células de acuerdo a como maduran. (Sabotta,2006 , p. 550)
- **Estrato Espinoso:** En estrato los queratinocitos son poliédricos y más voluminosos. Existe una gran abundancia de haces de filamentos de queratina. Contiene hialurano como matriz de muchos tejidos conjuntivos. (Sabotta,2006 , p. 553)

- Estrato Granuloso: Este contiene 4-5 capas de queratinocitos aplanados. La queratohialina se encuentra en contacto con filamentos de queratina y cuerpos de Odland. (Eynard et al, 2008, p. 371). Las células aplanadas presentan gránulos basófilos, que contienen filamentos de queratina y queratohialina. Los cuales son precursores de la proteína filagrina. (Sabotta, 2006 , p. 553)
- Estrato Lúcido: Esta capa solo se observa en piel gruesa. Está compuesta por células sin núcleo ni orgánulos, pero presenta abundantes filamentos de queratina dispuestos en haces densos paralelos a la superficie de la piel. (Eynard et al, 2008, p. 371)
- Estrato Corneo: es la capa más externa de la piel compuesta por células cornificadas, es decir células muertas. (Sabotta, 2006 , p. 553) . Junto a los lípidos y a la proteína involucrina confieren la impermeabilidad del epitelio. (Eynard et al, 2008, p. 371)

Los estratos Basal, espinoso y granuloso contienen células vivas. También se conoce como estrato Germinativo al estrato basal y espinoso, porque allí ocurre el proceso de formación de nuevas células epiteliales. (Sabotta, 2006 , p. 550)



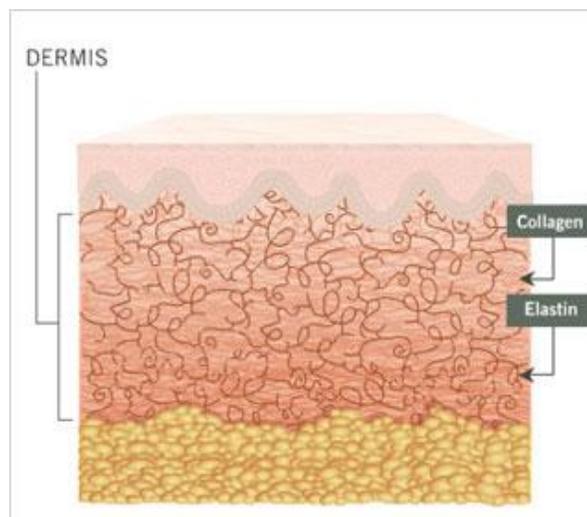
**Figura 9-1.** Estratos de la Epidermis  
Fuente: (Sabotta, 2006 )

Dermis: Es la capa intermedia del tejido conjuntivo que se origina del mesodermo embrionario, se encuentra situada debajo de la epidermis. (Eynard et al, 2008, p. 369). Esta capa contempla el 15-20% del total del peso del cuerpo. Entre las funciones más importantes se encuentra la protección contra lesiones y almacenamiento de agua. Asimismo, confiere elasticidad y firmeza a la piel. La dermis

está compuesta por colágeno, microfibrilla, dermatán sulfato, fibras elásticas, hialuronano, nervios y vasos sanguíneos. Además, Se localizan células como fibroblastos, linfocitos, macrófagos y mastocitos. (Sabotta, 2006 , p. 557)

La dermis posee dos capas. Estas son:

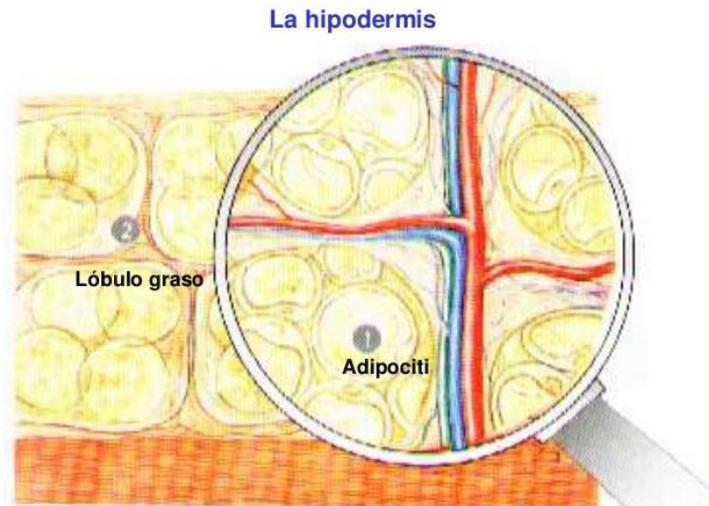
- Capa Papilar: Esta capa se encuentra por debajo de la epidermis. Esta contiene más colágeno tipo III que tipo I. Esta cuenta con capilares sanguíneos responsables de la nutrición de la epidermis. (Sabotta, 2006 , p. 550)
- Capa Reticular: Posee tejido conjuntivo denso irregular, con abundantes fibras de colágeno tipo I. Además, fibras elásticas, glándulas sebáceas y sudoríparas, y proteoglicanos ricos en dermatán sulfato. (Eynard et al, 2008, p. 371)



**Figura 10-1.** Gráfico de la Dermis

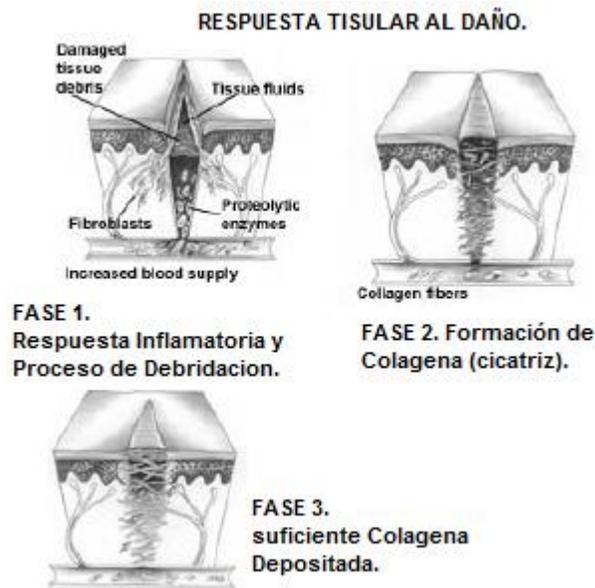
Fuente: (Eynard et al, 2008)

Hipodermis: Esta capa contiene diferentes variedades de células. Posee adipocitos, fibroblastos, histiocitos, linfocitos, células plasmáticas y mastocitos. Muchas de estas células están implicadas en el procesamiento de antígenos extraños que pueden ser introducidos traumáticamente en la piel. (Cohen et al, 1992, pp. 346-347).



**Figura 11-1.** Gráfico de la Hipodermis  
Fuente: (Cabarca, 2014)

#### 1.4 Cicatrización



**Figura 12-1.** Fases de Cicatrización  
Fuente: (Eynard et al, 2008)

El proceso de cicatrización se traduce a una serie de reacciones celulares y moleculares. Como tal es un proceso de reparación tisular. (Arias et al, 1999, p.108)

La cicatrización es un proceso fisiológico, el cual conlleva una gran complejidad al restaurar la piel y prevenir cualquier tipo de anomalía. La cual, es muy importante para conservar la homeostasis y bienestar del individuo. (Bielsa, 2006, pp. 207-212)

El proceso de cicatrización se divide en tres etapas: Fase inflamatoria, Proliferativa y Remodelación.

#### ***1.4.1 Fase inflamatoria***

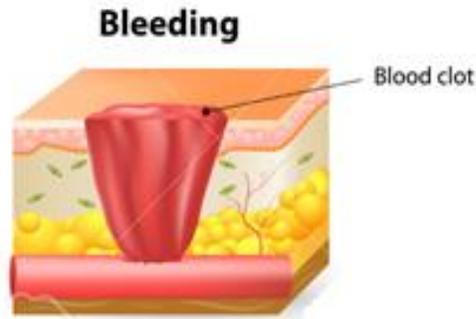
La fase inflamatoria comprende a la hemostasia y la inflamación.

##### ***1.4.1.1 Hemostasia***

La hemostasia es la primera fase que se produce en el momento de un trauma tisular. Los componentes de la piel actúan interrumpiendo y cesando el sangrado excesivo en el sitio de la herida. (Cohen et al, 1992, pp. 346-347). Los mediadores más importantes son Fibrina, vasos sanguíneos y plaquetas. (Bielsa, 2006, pp. 207-212)

Las plaquetas empiezan a tener contacto con el colágeno dañado y otros residuos del tejido. Una vez sucedido esto los gránulos alfa liberan agentes que afectan la coagulación, como el factor de crecimiento polipeptídico potente. (Cohen et al, 1992, pp. 346-347).

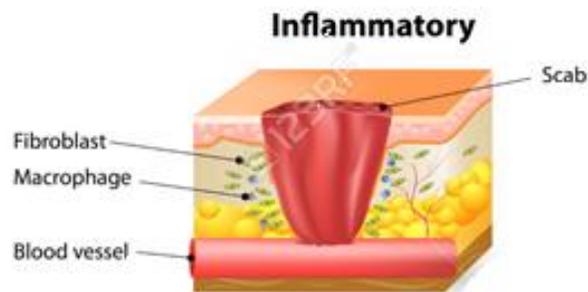
La agregación plaquetaria forma un trombo. Este trombo junto a la vasoconstricción, reactiva los vasos traumatizados conduciendo a la hemostasia. Se cree que el trombo proporciona un sustrato para que las células inflamatorias se adhieran y migren hacia el sitio de la herida. Las plaquetas son el primer componente celular que actúa en el sitio de la herida. (Cohen et al, 1992, pp. 346-347).



**Figura 13-1.** Gráfico de una herida  
**Fuente:** (Cabarca, 2014)

#### 1.4.1.2 Inflamación

La primera manifestación clínica de esta etapa es la aparición de eritema, hinchazón y dolor. Como efecto de la vasodilatación y el incremento de la permeabilidad de capilares. (Bielsa, 2006, pp. 207-212). Después de la formación de trombos, vasodilatación secundaria y aumento de la permeabilidad capilar. Los neutrófilos son los primeros en entrar al sitio de la herida, atraídas por diferentes factores de crecimiento y citocinas. Con dos funciones primordiales función inmunológica y control de contaminación bacteriana (Cohen et al, 1992, pp. 346-347). Los monocitos son las siguientes células en llegar a la herida, eliminando partículas extrañas y bacterias. Estas se mantienen por días o semanas liberando citosinas proinflamatorias.



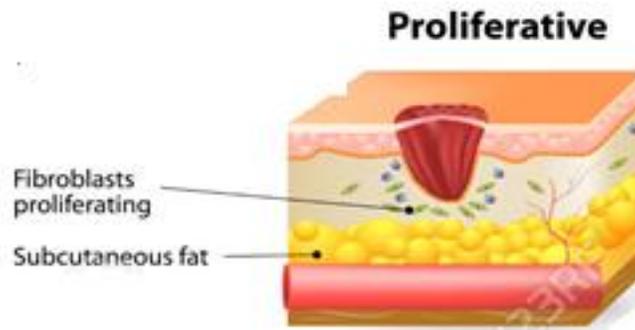
**Figura 14-1.** Fase inflamatoria  
**Fuente:** (Cabarca, 2014)

### **1.4.2 Proliferativa**

En esta fase se presentan dos eventos fundamentales: la formación de un tejido de granulación y el proceso de epitelización.

En el tejido de granulación conlleva un proceso de migración y proliferación de fibroblastos, producción de una matriz extracelular y la formación de nuevos capilares, encaminados a la regeneración de la dermis apta para sus funciones. Este tejido está comprendido por macrófagos, los cuales son encargados de la producción de citosinas y factores de crecimiento. Estos intervienen en la fase inflamatoria y proliferativa. Ayudando a la recuperación exitosa de la curación de la herida. (Bielsa, 2006, pp. 207-212)

La epitelización es una etapa de restablecimiento de una epidermis sobre el tejido de granulación. Las citosinas y los factores de crecimiento ayudan a la proliferación y migración de los queratinocitos. (Bielsa, 2006, pp. 207-212)



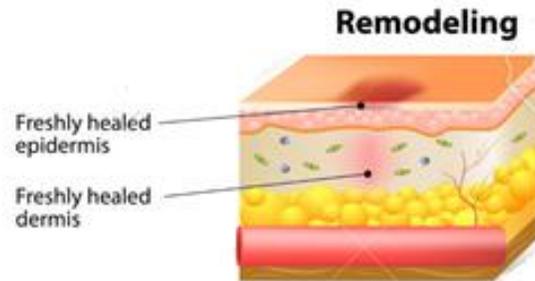
**Figura 15-1.** Fase Proliferativa  
Fuente: (Cabarca, 2014)

### **1.4.3 Remodelación**

Esta es la fase madurativa, en la cual se da la contracción de la cicatriz, disminución del eritema y aumento de su resistencia.

Los principales componentes en la maduración de la herida son: Colágeno, fibroblastos y vasos sanguíneos. La herida se contrae gracias a la presencia de filamentos de actina, presentes en los

miofibroblastos. La disminución del grosor de la herida ira mejorando gracias a la presencia de colágeno. En una cicatriz reciente presenta una alta concentración de colágeno, las cuales serán débiles. Con el pasar del tiempo estas fibrillas de colágeno incrementan su grosor. Brindando a la cicatriz mayor resistencia. (Bielsa, 2006, pp. 207-212)



**Figura 16-1.** Fase de Remodelación  
Fuente: (Cabarca, 2014)

## CAPÍTULO II

### 2. METODOLOGÍA

#### 2.1 Materiales, equipos y reactivos

##### 2.1.1 Muestras Vegetal

Para la investigación se utilizara Sangorache (*Amaranthus Quitensis*). Que será proporcionado por el Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria (INIAP).

Las muestras de Sangorache se recolectaran en la estación experimental “Santa Catalina”. Que se encuentra en la provincia Pichincha, en el Cantón Mejía, Panamericana Sur Km. 1, en el Sector Cutuglagua. (INIAP,2001, pp.11-12)

##### 2.1.1.1 Características generales

La estación experimental “Santa Catalina” posee condiciones climáticas bajas, tiene una humedad relativa de 79% y la temperatura oscila entre 11 a 11.6 ° centígrados.. Se encuentra a una *altitud de 2.400 a 3.500 metros sobre el nivel del mar.* (INIAP,2001,pp.11-12)

#### 2.2 Población de Estudio

Se utilizara ratones *Mus musculus*, Cepa B ALB/C. Estos animales son genéticamente estandarizados, aptos para destinarlos a la investigación y desarrollo de causas, diagnóstico y tratamiento de enfermedades que afectan a los seres humanos, así mismo para la producción y control de medicamentos o productos alimenticios.

Los ratones son utilizados por su fácil manejo, por su capacidad de reproducción, son estables en periodos, variabilidad genética. Por lo tanto los animales deben ser criados en condiciones adecuadas tratados con principios éticos acerca del bienestar del animal.

### 2.2.1 *Tamaño de Muestra*

Para esta investigación se utilizaran 24 ratones de género *Mus musculus*, Cepa B ALB/C. Que serán divididos en seis grupos experimentales de tres ratones cada uno, que serán utilizados de la siguiente manera:

**Tabla1-2:** Denominación de los grupos experimentales

<b>G1</b>	Grupo Control(gel base)
<b>G2</b>	Control Positivo( trolamina)
<b>G3</b>	Gel Extracto lipídico de grano 1%
<b>G4</b>	Gel Extracto lipídico de grano 2%
<b>G5</b>	Gel Extracto etanólico de grano 1%
<b>G6</b>	Gel Extracto etanólico de grano 2%
<b>G7</b>	Gel Extracto lipídico de hoja 1%
<b>G8</b>	Gel Extracto lipídico de hoja 2%

Realizado por: Diego Salazar

### 2.2.2 *Selección de muestra*

Se utilizaran ratones machos de 35 a 40 g de peso aproximadamente, los cuales se colocarán en forma aleatoria en cada uno de los grupos de investigación antes descritos.

### 2.3. Material de Laboratorio

**Tabla2-2:** Equipos utilizados en la investigación

Equipo	Marca
Balanza	METTLER TOLEDO ME 204
Estufa	MEMMERT SNB 100
Potenciómetro	METTLER TOLEDO
Molino	EBC – Tamiz 1mm
Bomba de vacío	GAST DOA-P704-AA
Rotavapor	YAMATO Water Bath BM 500
Cabina de Flujo Laminar	Biobase DX A201805
Procesador de Tejidos	MICROM STP 120
Dispensador de Parafina	LECSA Modelo:4002
Micrótopo	MICROCOSMOS SHANDON FINESSE
Autoclave	TULTRAUER 2540 EK

Realizado por: Diego Salazar

**Tabla3-2:** Reactivos y excipientes utilizados en la investigación

Reactivos			Excipientes
Extracción	Análisis fitoquímico	Análisis Histopatológico	Elaboración de gel
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hexano</li> <li>• Agua destilada</li> <li>• Alcohol potable</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alcohol amílico</li> <li>• Tricloruro férrico al 5%</li> <li>• Ácido clorhídrico concentrado</li> <li>• Cinta de magnesio metálico</li> <li>• Acetato</li> <li>• Ácido sulfúrico</li> <li>• Cloroformo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agua amoniacal</li> <li>• Parafina</li> <li>• Eosina</li> <li>• Xileno</li> <li>• Hematoxilina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Croduret</li> <li>• Tween 80</li> <li>• Carbopol</li> <li>• Trietanolamina</li> <li>• Glicerina</li> <li>• Dimeticona</li> <li>• Metilparabeno</li> <li>• Propilparabeno</li> </ul>

Realizado por: Diego Salazar

## **2.4 Técnicas de Recolección de Datos**

Las actividades de preparación de la investigación, toma de muestras, elaboración del fitofármaco, datos, análisis de laboratorio, procesamiento de la información e interpretación de los resultados obtenidos se llevarán a cabo en los laboratorios de la Facultad de Ciencias ESPOCH, en los laboratorios de la Facultad de Ciencias y Bioterio de la UNACH, a través de la observación directa del proceso de cicatrización, evidenciando a través de fotografías de las heridas, que al final de la investigación serán procesadas en un software.

## **2.5 Obtención de los extractos etanólicos**

Los extractos etanólicos se los obtendrá a través de maceración de la muestra de sangorache con alcohol, para lo cual se utilizara la siguiente técnica:

### **2.5.1 Técnica de maceración**

1. Se procede a la trituración de las partes de la planta que se van a utilizar, posteriormente se pesara 200 g de cada muestra en este caso serán de grano y de hojas secas.
2. A las muestras obtenidas anteriormente se le colocara 800 ml de alcohol potable 70%, esto se hará en un recipiente ámbar para evitar el paso de luz y así evitar el deterioro de la muestra.
3. Una vez que se tiene lista la muestra con el alcohol, se deja reposar en un lugar fresco durante siete días, agitando el recipiente de vez en cuando.
4. Luego de los siete días se procede a filtrar el macerado a través de un colador, la solución recolectada se concentra a 40°C en un rotavapor, para eliminar los restos de alcohol y obtener solamente los metabolitos que se necesitan. (Pamplona, 2006, p. 48)

## 2.6. Obtención de los extractos lipídicos

Lara la obtención de los extractos lipídicos del sangorache, se utilizará el método de soxhlet, este método nos ayuda a evitar la pérdida de aceites debido ya que estos son sensibles al calor. (Bruneton, 1993, pp. 24-31). La técnica que se usara para este fin es la siguiente:

### Técnica:

- 1.- El primer paso es colocar la muestra de sangorache en dedales, que posteriormente se los colocara en un recipiente para proceder a la maceración con hexano, de la misma manera que en los extractos etanólicos, se los dejara reposar durante siete días, con movimientos breves cada cierto tiempo.
- 2.- Una vez concluido el proceso de maceración se procederá a colocar el dedal con la muestra en el soxhlet, y se filtrara el resto de macerado, ese filtrado se lo colocara en el balón.
- 2.- Luego de colocar las muestras en el equipo se lo deja por 30 minutos a 45°C aproximadamente
- 3.- Para obtener el rendimiento de los aceites se utiliza la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Aceites esenciales} = \frac{\text{g de aceite obtenido}}{\text{g de semilla ocupada}} \times 100$$

## 2.7. Análisis fitoquímico

Después de la obtención de los extractos tanto lipídicos como etanólicos de las distintas muestras de sangorache se procederá al análisis fitoquímico de los mismos, para conocer los distintos componentes que posee el sangorache y que nos pueden servir para llevar a cabo la presente investigación.

### ***2.7.1. Determinación cualitativa de Alcaloides – Ensayo de Dragendorff***

Este ensayo nos ayuda a la identificación de alcaloides. Para lo cual se toma 1mL de nuestro extracto en un tubo, se coloca en baño maría para evaporar el solvente. Una vez evaporado el solvente se añade 1 mL de ácido clorhídrico concentrado para reconstituir la muestra. Después se adicionan de 2 a 4 gotas de reactivo de dragendorff. Para que la prueba sea positiva debe existir opalescencia. (LOCK DE UGAZ, 1994, pp. 5 ; 25-35)

### ***2.7.2. Determinación cualitativa de taninos- Reacción con solución acuosa o etanólica de FeCl<sub>3</sub>***

En un tubo se coloca 2 mL del extracto y se añaden 3 gotas de tricloruro férrico al 5%. Si se da una coloración roja a vino la prueba es positiva para compuestos fenólicos, y una coloración verde intensa nos indica la presencia de taninos de tipo pirocatecólicos (LOCK DE UGAZ, 1994, pp. 5 ; 25-35)

### ***2.7.3. Determinación cualitativa de Aminoácidos libres – Ensayo de Ninhidrina***

Se toma una alícuota de extracto en un tubo y se coloca en baño maría. Se le añaden 2 mL de solución al 2% de ninhidrina. Luego se calienta durante 5 a 10 minutos en baño maría. Si da una coloración azul violáceo indica que la prueba es positiva. (LOCK DE UGAZ, 1994, pp. 5 ; 25-35)

### ***2.7.4. Determinación cualitativa de Quinonas– Ensayo de Borntrager***

Se coloca una alícuota del extracto en un tubo y se evaporar el solvente restante en baño maría, el residuo que nos queda se lo disuelve añadiendo 1mL de cloroformo, posteriormente se coloca 1mL de Hidróxido de Sodio y se agita para que se homogenice bien. Se deja en reposo hasta que se observen dos fases. Si en la fase superior nos da un color rosado – rojo, se considera que la prueba es positiva. (LOCK DE UGAZ, 1994, pp. 5 ; 25-35)

### ***2.7.5. Determinación cualitativa de Flavonoides - Ensayo de Shinoda***

Se toma una cierta cantidad de extracto que será aproximadamente de unos 2 mL en un tubo de ensayo. Seguidamente se añadirá magnesio seguido de 1 mL de ácido clorhídrico concentrado. La

presencia de color indica la existencia de Flavonoides, si el color es de amarillo a rojo pertenece a las flavonas y flavonoles, la presencia de color rojo a magenta pertenece a flavononoles, el color rojo, magenta, violeta o azul nos indica presencia de flavononas, un color amarillo indica isoflavonas, isoflavononas, chalconas y finalmente para las auronas no dan coloración. (LOCK DE UGAZ, 1994, pp. 5 ; 25-35)

#### ***2.7.6. Determinación cualitativa de Triterpenos y/o esteroides – Flavonoides - Ensayo de Liberman- Buchard***

Se toma 2 mL del extracto y se lo coloca en un tubo de ensayo, se añade 1 mL de cloroformo, seguidamente se coloca un 1 mL de anhídrido acético y se agita. Luego se deja caer por las paredes del tubo de 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrador. La presencia de coloración nos indica un resultado positivo. Si la reacción se da de forma rápida, presentara un color rosado- azul. Si la reacción fue visible pero rápida presenta color verde intenso. (LOCK DE UGAZ, 1994, pp. 5 ; 25-35)

#### ***2.7.7. Determinación cualitativa de Antocianidinas***

Se coloca 1 mL del extracto en un tubo seguidamente se le incorpora 1 mL de HCl, se coloca el tubo en baño maría por un periodo de 10 minutos. Luego de dicho tiempo se retira el tubo del baño maría y se espera a que se enfríe, una vez frío se le adiciona 1mL de agua, luego se añade 1mL de alcohol amílico. Se homogeniza el tubo con pequeños movimientos, se deja en reposo y esperamos a que se formen dos fases. La prueba será positiva si en la fase superior se da un color marrón. (LOCK DE UGAZ, 1994, pp. 5 ; 25-35)

### **2.8. Determinación de la dosis letal 50 (DL 50)**

Esta determinación ayuda a observar los efectos adversos que pueden darse dentro del periodo de evaluación que es de siete días desde que se les administra a los ratones una dosis única.

### **2.8.1. Determinación DL 50 para extractos etanólicos**

1. Se seleccionaron 24 ratones con un peso de 35 a 47 g con una edad de 60-90 días, para que estos se puedan ambientar se lo realiza tres días ante de iniciar la determinación.
2. Para realizar los grupos de investigación se ubicaron a los ratones según su peso desde el mayor al menor.
3. Se conforman dos grupos uno para el gel etanólico de hoja y otro para el gel etanólico de grano, cada uno de estos está conformado por 12 ratones, 3 ratones para cada dosis de administración que serán de: 5000, 2500, 1250,625 mg/Kg.
4. Para saber cuál es la cantidad de extracto que se debe administrar se realiza el siguiente calculo según el peso del ratón y a la dosis del ensayo:

$$mg \text{ de extracto} = \frac{Dosis(mg) * Peso \text{ Ratón } (g)}{1000 g}$$

$$mL \text{ Teóricos} = \frac{Concentración (g) * mg \text{ de extracto}}{1 mL}$$

5. Doce horas antes de empezar con el ensayo se debe retirar el agua y el alimento a los ratones.
6. El día en que se inicia el ensayo se debe: retirar el aserrín, se prepara la dosis de administración, esta administración será vía oral utilizando una cánula adaptada en una jeringuilla. A la cánula se la lubrica con vaselina antes de la administración.
7. Luego de 60 minutos de haberse administrado la dosis se les provee de comida.
8. Algunos de los parámetros que se evalúan en este ensayo son: disminución o aumento de la actividad motora, erección en la cola, diarrea, actividad prensil, test de Chimenea, micción y mortalidad. (anexo 5 y 6)

Al finalizar el periodo de evaluación de siete días se realiza la disección. (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo, 1995, pp.49-50)

### **2.8.2. Determinación DL 50 para extractos lipídicos**

Para realizar los grupos de investigación se ubicaron a los ratones según su peso desde el mayor al menor.

1. Se seleccionaron 12 ratones con un peso de 25 a 35 g con una edad de 60-90 días, para que estos se puedan ambientar se lo realiza tres días ante de iniciar la determinación.
2. Para realizar los grupos de investigación se ubicaron a los ratones según su peso desde el mayor al menor.
3. Como solo es un gel lipídico existirá un solo grupo que estará conformado por los 12 ratones, 3 ratones para cada dosis de administración que serán de: 64, 32, 16 y 8 mg/Kg.
4. La cantidad de extracto que se administrara será calculado según el peso del ratón y la dosis que se administrara, para esto se utiliza la siguiente formula:

$$mL \text{ de extracto administrar} = \frac{Dosis(mL) * Peso Ratón (g)}{1000 g}$$

$$g \text{ del extracto} = densidad * mL \text{ administración}$$

$$Dosis \text{ real administrada} = \frac{mg \text{ del extracto}}{\text{peso del ratón}}$$

5. Doce horas antes de empezar con el ensayo se debe retirar el agua y el alimento a los ratones.

6. El día en que se inicia el ensayo se debe: retirar el aserrín, se prepara la dosis de administración, esta administración será vía oral utilizando una cánula adaptada en una jeringuilla. A la cánula se la lubrica con vaselina antes de la administración.

7. Luego de 60 minutos de haberse administrado la dosis se les provee de comida..

8. Los parámetros a observar serán los mismos que en la determinación de las DL 50 de los extractos etanólicos por lo que nos podemos guiar en el anexo 5.

9. Al finalizar el periodo de evaluación de siete días se realiza la disección.

### **2.9. Ensayo de irritabilidad**

El ensayo de irritabilidad se lo efectúa para evidenciar algún tipo de reacción que pueda tener el extracto puro al ser aplicado en la piel de los ratones., para lo cual se realiza los siguientes pasos:

1. Se seleccionan 3 ratones aleatoriamente

2. A continuación se procede a depilar el lomo del ratón, una vez depilado se espera uno o dos días antes de iniciar el ensayo.

3. Una vez culminado el tiempo de espera se debe limpiar el área depilada con suero fisiológico.

4. Seguidamente se aplica el extracto de forma directa en la parte que se depilo anteriormente, para esto se utilizó un hisopo.

5. Transcurrido un período de seis horas desde la aplicación inicial, se procede a una segunda aplicación del extracto.

6. Transcurrido un día desde la primera aplicación se evalúa la presencia de enrojecimiento o erupción cutánea

## **2.10. Control de calidad de los excipientes**

Se debe realizar el control de calidad en los excipientes para garantizar la inocuidad, calidad de los mismos y por ende del gel que se va a elaborar.

### **2.10.1. Agua purificada**

Los parámetros que se evalúan para garantizar la calidad del agua están dados en la USP 35 en la 5ta ed. la misma nos dice que el agua que se va a utilizar debe ser transparente, sin color ni olor, su pH debe estar entre 5 y 7.5, la conductividad no debe ser menor a 0.13  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

Otros de los parámetros que se evalúan son:

**Cloruros:** Para determinar los cloruros se añade 5 gotas de ácido nítrico y 1 mL de nitrato de plata en 100 ml de muestra, pasado un tiempo de quince minutos no debe existir opalescencia en la solución.

**Sulfatos:** En la determinación de sulfatos se añade 1 ml de cloruro de bario a 100 ml de muestra, luego de esto la solución no debe tener turbidez.

**Calcio:** La determinación de calcio se realiza colocando 2 ml de oxalato de amonio en 100 ml de la solución no debe ser turbia.

**Sólidos Totales:** Para determinar sólidos totales se debe evaporar a sequedad en baño maría 100 ml de la muestra, posteriormente se deja secar a 105 grados Celsius por 60 minutos. Luego de esto se lleva a pesar, el peso de estos residuos debe ser máximo de 1 mg

**Parámetros microbiológicos:** En los parámetros microbiología se realiza la determinación de:

- **Aerobios totales:** para lo cual el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g
- **Mohos y levaduras:** no debe existir la presencia de estos microorganismos.
- **Patógenos:** debe haber ausencia de patógenos en el agua.

### **2.10.2. Carbopol**

El Carbopol es un polvo blanco, de olor tenue, higroscópico, en cuanto a su solubilidad la USP indica que es soluble en agua y en alcohol, al ser neutralizado con hidróxido de sodio 1 Normal hasta pH 7,5 llega a formar un gel viscoso.

**Parámetros microbiológicos:** Debe cumplir con los siguientes parámetros:

- **Aerobios totales:** para lo cual el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g
- **Mohos y levaduras:** no debe existir la presencia de estos microorganismos.
- **Patógenos:** debe haber ausencia de patógenos en el agua.

### **2.10.3. Croduret**

Este excipiente es una mezcla semisólida de color amarillento, es un emulsificante y lubricante, es soluble en etanol, acetona y agua.

**El índice de saponificación:** debe estar entre 50 y 60 mg KOH/g, para determinar este parámetro se debe:

Utilizar 2,5 mL de muestra, si esta no es transparente se la debe filtrar, se pone la muestra en un erlenmeyer, luego se le adiciona 25 mL de hidróxido de potasio, se conecta al condensador y se hace hervir hasta que la grasa este completamente saponificada, se deja enfriar y se titula con HCl 0,5 N se usa como indicador la fenolftaleína. Se reporta el índice de saponificación como los miligramos de KOH que se necesitan para saponificar un gramo de grasa.

### **2.10.4. Dimeticona**

La dimeticona es un líquido claro de color ligeramente ámbar y con olor característico, su viscosidad debe estar entre 190 y 220 centistokes, la densidad esta entre 0,964 y 0,972 g/ml

### **2.10.5. Glicerina**

Es un líquido sin color, tiene un sabor dulce y de olor característico, su densidad no debe ser menor a 1,249 g/mL. La glicerina es soluble en alcohol y metanol pero insoluble en cloroformo y éter.

Para identificarlo se debe mezclar 1 ml de la muestra, con 0,5 ml de ácido nítrico, si no se mezcla se debe agregar 0,5 ml de solución de dicromato de potasio, se formara un anillo de color azul en la interface de los líquidos. Se debe dejar en reposo por 10 minutos.

**Para determinar cloruros:** se debe poner 1gramo de la muestra en 10 ml de agua, luego se adiciona 5 gotas de ácido nítrico concentrado y 0,5 ml de nitrato de plata, no se debe formar precipitado blanco.

**Para determinar sulfatos:** se pesa 1gramo de la muestra y se coloca tres gotas de ácido clorhídrico concentrado, luego se adicionan 5 gotas de  $\text{Cl}_2\text{Ba}$ .

**Parámetros microbiológicos:** En los parámetros microbiología se realiza la determinación de:

- **Aerobios totales:** para lo cual el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g
- **Mohos y levaduras:** el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g.
- **Patógenos:** debe haber ausencia de patógenos en el agua.

### **2.10.6. Goma xantan**

Este es un polvo fino que presenta un color blanco- cremoso; no tiene olor ni sabor, es soluble en agua, su pH en solución acuosa es neutro.

Otro parámetro que se evalúa es la pérdida de peso para lo cual se pesa 2 gramos de la muestra y se deja en la estufa a una temperatura de 105 ° C, luego se pesa, la pérdida no debe ser más del 15% de su peso inicial.

**Parámetros microbiológicos:** En los parámetros microbiología se realiza la determinación de:

- **Aerobios totales:** para lo cual el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g
- **Mohos y levaduras:** el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g.
- **Patógenos:** debe haber ausencia de patógenos en el agua.

#### ***2.10.7. Metil Parabeno Sódico***

Es un polvo cristalino de color blanco su olor es característico es soluble en alcohol, éter y ligeramente soluble en agua y benceno, su punto de fusión esta entre 125y- 128°C, el pH está en el intervalo de 9,5 a 10,5.

**Parámetros microbiológicos:** En los parámetros microbiología se realiza la determinación de:

- **Aerobios totales:** para lo cual el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g
- **Mohos y levaduras:** el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g.
- **Patógenos:** debe haber ausencia de patógenos en el agua.

#### ***2.10.8. Propil Parabeno Sódico***

Este excipiente es un polvo cristalino de color blanco, con olor característico, es higroscópico, es soluble en agua, alcohol e insolubles en aceites, el pH es de 9,5 a 10,5

Para su identificación se debe pesar 0.3 gramos de la muestra y llevar a Ignición, luego se deja enfriar y el residuo se debe disolver con 3 ml de HCl 3N. la solución que se obtiene se coloca en un asa de platino al ser llevado a la llama se presenta un intenso y persistente color amarillo según la USP 30 /Farmacia Remington 17 A. Ed.

**Parámetros microbiológicos:** En los parámetros microbiología se realiza la determinación de:

- **Aerobios totales:** para lo cual el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g
- **Mohos y levaduras:** el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g.
- **Patógenos:** debe haber ausencia de patógenos en el agua.

### **2.10.9. Trietanolamina**

La USP 30 nos indica que es un líquido de color ligeramente amarillo, es viscoso e higroscópico con un olor ligeramente amoniacal, cuando es expuesto a la luz y aire se torna de color café, es soluble en agua, alcohol, cloroformo, y ligeramente soluble con éter o benceno.

Para su identificación se debe tomar 1 ml de muestra en un tubo de ensayo y calentar lentamente, los vapores que se emanan de este tubo al contacto con el papel tornasol cambian el color de rojo a azul.

**Parámetros microbiológicos:** En los parámetros microbiología se realiza la determinación de:

- **Aerobios totales:** para lo cual el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g
- **Mohos y levaduras:** el recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/g.
- **Patógenos:** debe haber ausencia de patógenos en el agua.

### **2.10.10. Tween 80 (Polisorbato)**

En la Farmacia Remington 17 A. Ed. y la USP 30 s describe al tween 80 como un líquido de color amarillento, oleoso al tacto, es soluble al agua, su densidad es de 1,06 a 1,09 g/ml y su pH va de 6 a 8.

Para su identificación se puede usar dos métodos:

1. Se toma 5 ml de la solución 1:20 se añade 5 mL de hidróxido de sodio. Se deja hervir unos pocos minutos, luego de que esta se enfrié se acidifica con HCl 3N. al final la solución desarrolla opalescencia.
2. Se realiza la mezcla de Tween-Agua en proporción 60:40 esta mezcla es gelatinosa a temperatura ambiente.

### **2.11. Elaboración de los geles**

Para la elaboración de los geles vamos a seguir el siguiente procedimiento:

1. Se coloca 93 mL de agua en un vaso de precipitación de 150 ml, luego se le añade el Carbopol en pequeñas cantidades y se agita hasta que desaparezcan los grumos, seguidamente se le añade la goma xantan y se mezcla de igual manera hasta que no exista grumos, se deja reposar durante un día.
2. Al siguiente día se añade la dimeticona, y se mezcla, luego se adicionan los parabenos, estos serán disueltos en agua caliente, una vez adicionados los parabenos al gel, se procede a incorporar la Trietanolamina, todo esto se mezcla hasta que se observe homogeneidad.
3. Una vez que obtenemos el gel base, se proceda a la adición de los distintos extractos ya concentrados de esta forma obtenemos los geles etanólicos.

Para la obtención de los geles lipídicos se debe realizar un micro- emulsión, para lo cual se mezcla en un vaso el extracto lipídico concentrado, juntos con la glicerina, tween 80, y croduret , se mezcla hasta homogenizar, finalmente esta micro- emulsión se le adiciona al gel base. (Alonso G., 2003, pp. 970-975)

## **2.12. Control de calidad de los geles**

### ***2.12.1. Parámetros organolépticos***

El gel debe tener un aspecto untuoso y homogéneo, no debe existir la presencia de partículas extrañas, su color debe ser característico del gel que se obtiene al ser cotejado con el color que poseen los extractos utilizados en su elaboración, el olor será característico a los ingredientes presentes en la formulación.

### **2.12.2. Parámetros Físicos**

#### **2.12.2.1. Determinación de pH**

1. Primero se debe calibrar el equipo antes de empezar a tomar las lecturas. Para esto se utiliza soluciones buffer con valores de pH de: 4, 7 y 10.
2. Una vez calibrado el equipo se procede a tomar las lecturas para los diferentes geles, estos deben tener un pH entre 4 y 7 según lo explica la USP 35.

#### **2.12.2.2. Ensayo de Extensibilidad**

- Para este ensayo se usa el medidor de extensibilidad.
- Se coloca un gramo del gel en el equipo y se realiza presión en el mismo, la extensibilidad se mide con la ayuda de una regla que ya viene marcada en el equipo. Para este ensayo la USP 35 nos indica que el valor debe ser máximo de 4,5 cm.

### **2.12.3. Parámetros Microbiológicos**

El control microbiológico del gel nos ayuda garantizar que el mismo se encuentra elaborada de un manera inocua y que no va a causar daño al paciente, además avala una correcta manipulación de las distintas sustancias usadas en la elaboración del gel, que van desde el uso de la materia prima, la obtención de los extractos y finalmente la obtención el producto terminado. Para este control se va a utilizar placas petri film que nos ayudaran a verificar la existencia o no de los microorganismos más relevantes o que pueden tener una mayor posibilidad de proliferan en el gel por lo que se hará un control para mohos- levaduras, coliformes totales y aerobios mesófilos.

#### **2.12.3.1. Determinación de mohos, levaduras y coliformes – Petri film**

Para la identificación de los microorganismos antes mencionados se va a utilizar el siguiente procedimiento:

1. A las cajas petri film se les etiquetara para evitar confusiones al momento de su uso.
2. Luego del gel que se va a analizar se procede a hacer una disolución decimal, para poder colocar en las placas.
3. A la placa de petri film se le alza la película protectora, que se encuentra en la parte superior de la misma.
4. Se toma 1 mL de la disolución del gel y se la coloca en la mitad del círculo, que se encuentra en la parte interior de la placa, se realiza pequeños movimientos a la placa para que la solución ocupe todos los espacios del círculo.
5. Una vez esparcida la solución por todo el círculo, se cierra cuidadosamente la placa para evitar la entrada de burbujas.
6. Una vez sembrada la muestra del gel en la placa, se procede a incubar la misma a 35°C por 72 horas.
7. Este procedimiento se repite para las distintas muestras de gel.
8. Pasadas las 72 horas se realiza el conteo de las colonias y se reporta las mismas. (Rodríguez, et al, 2005, pp. 19,141)

### **2.13. Evaluación del efecto cicatrizante de los geles de Sangorache**

Para la evaluación del efecto cicatrizante se utilizara la Trolamina en su marca comercial Benafine como el control positivo, además de los distintos grupos ya mencionados en puntos anteriores, también se comprobará el porcentaje de mejora de la cicatrización, midiendo los diámetros de las heridas durante el tiempo de estudio. Para esta evaluación se procederá de la siguiente manera:

- 1) Se debe realizar la adaptación del ratón, para lo cual se separan a los mismos en cajas individuales y se les proporciona el alimento y agua.

2) Se debe proceder a una depilación en el lomo del ratón, para lo cual se utilizará una crema depilatoria, una vez depilado el ratón se lo dejara en reposo durante 24 horas.

3) Concluidas las 24 horas se procederá a realizar la incisión de la herida en la parte depilada, para estos se usara un sacabocado N° 3, el cual provocara una herida de 1 cm de diámetro y de 2 mm de profundidad.

4) Una vez que se ha realizado la incisión de la herida, se procederá a la aplicación de los geles por un periodo de 15 días, estos serán aplicados directamente en la herida dos veces al día.

### ***2.13.1. Obtención de cortes histopatológicos***

Al transcurrir 15 días de haberse aplicado el gel se procede a sacrificar al ratón para realizar el corte del área que se encuentra en proceso de cicatrización a la cual se le estaba aplicando el gel, para esto se procede de la siguiente manera:

1. Se anestesia al ratón para lo cual se le aplica una dosis de lidocaína por vía intraperitoneal.
2. Seguidamente se realiza el corte histopatológico utilizando un sacabocado número tres.
3. Una vez obtenido el tejido se lo coloca en el cassette de inclusión para tejidos, se rotula el cassette con el nombre del gel que se estaba aplicando en dicho tejido.
4. Se coloca el cassette en un frasco de formol al 10%, esto se realiza para conservar el tejido hasta que el mismo pueda ser analizado.

### ***2.13.2. Evaluación Histopatológica***

1. Una vez que se va a analizar los cortes de los tejidos, se coloca los cassettes bajo un chorro de agua con el fin de que se pueda deshacer del formol que se utilizó para su conservación.

2. Los cassettes son ubicados en un procesador de tejidos por dieciocho horas, esto se lo hace para preservar la morfología, composición y características propias del tejido.
3. Al finalizar las 18 horas se llevan los cassettes al dispensador de parafina.
4. Se procede a ubicar el tejido en el molde de parafina y enzima se pone el cassette se hace presión, y se obtiene un bloque que posteriormente ayudara al momento de realizar los cortes del tejido.
5. Se pone el cassette que contiene el bloque del tejido – parafina, en el micrótopo y se empieza a quitar el exceso de parafina.
6. Una vez, que se quitó la parafina que estaba en exceso, se realiza los cortes del tejido con el micrótopo.
7. Estos cortes de tejido se los coloca en el baño de fijación, con el fin de que el tejido se pueda extender y se lo pueda observar de una mejor manera posteriormente.
8. Al tejido se lo recoge del baño de fijación con la placa, luego se la rótula con el nombre que tenía en el cassette.
9. Se lleva la placa a la estufa que se encuentra a una temperatura de 60°C para destruir la parafina y quede solo el tejido.
10. Finalmente se realiza la tinción con hematoxilina y eosina, una vez concluida la tinción se lleva al microscopio para ser observado con el lente 10X.

#### **2.14. Análisis e Interpretación de la Información**

Las fotografías de las heridas recolectadas serán analizadas mediante el software Image J, el cual nos dará el diámetro exacto de la herida, para luego a través un análisis estadístico de ANOVA y el método Dunnett's se determinara cuál grupo experimental tuvo un mejor efecto cicatrizante.

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Extractos lipídicos y etanólicos

Se realizó varios procesos para la obtención de cada extracto, los cuales fueron expuestos anteriormente en el apartado metodología. Cabe recalcar que para la obtención de los extractos lipídicos se realizó una maceración por 6 días con hexano, como un paso previo antes de aplicar la técnica de soxhlet, con el fin de disminuir el tiempo de extracción, evitando la pérdida de sustancias termolábiles.

**Tabla 1-3:** Características organolépticas de cada extracto.

EXTRACTOS	PARÁMETROS		
	Color	Olor	Aspecto
<b>LIP.SG.</b>	Anaranjado	Característico al Sangorache	Ligeramente denso – propio de los aceites
<b>ETA.SG.</b>	Amarillo anaranjado	Característico al Sangorache	Ligeramente Turbio
<b>ETA.SH.</b>	Amarillo verdoso	Característico al Sangorache	Ligeramente Turbio, presencia de partículas verdes.

Realizado por: Diego Salazar

Los parámetros organolépticos cada extracto presenta su propio color, olor y aspecto debido a que cada variedad es única, estas características son propias de cada extracto empleando la utilización de los órganos de los sentidos.

### 3.2. Análisis fitoquímico del Sangorache

El análisis fitoquímico es un análisis cualitativo, es decir que se identifica la presencia mas no la cantidad de los distintos metabolitos secundarios presentes en el sangorache a través de reacciones colorimétricas.

**Tabla 2-3:** Análisis fitoquímico de Sangorache

<b>METABOLITO SECUNDARIO</b>	<b>ENSAYO</b>	<b>SANGORACHE</b>
Tanino Tipo Pirocatecólico	<b>Cloruro Férrico</b>	Positivo (+++)
Aminoácidos Libres	<b>Ninhidrina</b>	Positivo (++)
Triterpenos y/o esteroides	<b>Lieberman Buchard</b>	Positivo (++)
Antraquinonas	<b>Borntranger</b>	Negativo (-)
Lactonas y Cumarinas	<b>Baljet</b>	Negativo (-)
Azucares	<b>Fehling</b>	Positivo (+++)
Saponinas	<b>Espuma</b>	Negativo (-)
Flavonoides	<b>Shinoda</b>	Positivo (+++)
Alcaloides	<b>Dragendorff</b>	Negativo (-)
Aceites y Grasas	<b>Sudan</b>	Positivo (+++)
<b>Interpretación:</b> Abundante: +++ Moderado: ++ Escaso: + Negativo: -		

Realizado por: Diego Salazar

El análisis fitoquímico arrojó como resultado que: los Aminoácidos libres, Taninos del tipo pirocatecólico, Flavonoides, Aceites y Grasas y los Azucares son los metabolitos más representativos del Sangorache, los cuales jugarán un papel muy importante al momento de participar en los procesos de cicatrización. Al comparar este análisis fitoquímico con bibliografía se encuentra concordancia en los resultados según lo determinado por Guapi en el año 2013.

### 3.3. Evaluación de la Dosis Letal 50 (DL50)

Para la determinación de la dosis letal 50 (DL50) se utilizaron un total de 36 ratones machos cepa B ALB/C que tenían un peso de 35 a 47 g. una vez seleccionados los ratones se les administró las

distintas dosis de extracto. Se conformaron tres grupos de estudio en cada grupo se administraron cuatro dosis diferentes, cada una de estas dosis se les administraron a tres ratones por dosis, por lo que se utilizaron un total de 12 ratones por cada grupo, es decir 36 ratones para el estudio de las DL 50, las dosis administradas para cada grupo fueron de 5000, 2500, 1250 y 625 mg/Kg en los extractos etanólicos y de 64, 32, 16, y 8 mg/Kg para los extractos lipídicos.

### 3.3.1. Evaluación de la DL50 de extractos etanólicos de Sangorache

**Tabla 3-3:** Resultados de las DL50 de los extractos etanólicos de Sangorache hoja y grano.

Dosis(mg/kg)	E.ETA.SG		E.ETA.SH	
	#Ratones Inicio	#Ratones Muertos	#Ratones Inicio	#Ratones Muertos
5000	3	0	3	0
2500	3	0	3	0
1250	3	0	3	0
625	3	0	3	0

Realizado por: Diego Salazar

En la determinación de la toxicidad aguda a través de los ensayos de la dosis letal 50 (DL50) para los extracto de sangorache etanólicos tanto de hoja como de grano, los ratones se evaluaron en un periodo de 7 días después de la administración, luego de este tiempo no se evidencio mortalidad.

Sin embargo hubo la presencia de efectos secundarios después de la administración. En lo que tiene que ver con el extracto etanólico de sangorache grano las dosis de 5000 mg/Kg los ratones sufrió una disminución de su actividad motora durante un periodo de 4-5 horas, además en este mismo lapso de tiempo se pudo observar, una baja actividad prensil. Con el transcurrir de las horas estos efectos fueron desapareciendo, y el periodo de análisis concluyo normalmente.

Durante la administración de la dosis de 2500 mg/Kg se observó en los ratones la erección del pilo durante las primeras dos horas, posteriormente el análisis concluyó con normalidad. En la dosis de 1250 mg/Kg y 625 mg/Kg no se observó ningún efecto adverso en los ratones desarrollándose con normalidad el periodo de los siete días que duró la evaluación de las DL50.

En el extracto etanólico de sangorache hoja se pudo observar que en la dosis más alta es decir la de 5000 mg/Kg existió la erección del pilo en un periodo de 1-2 horas, también se pudo evidenciar una actividad prensil disminuida así como una pasividad en el ratón, estos efectos desaparecieron después de las 6 horas de administrar las dosis.

Para la siguiente dosis que fue la 2500 mg/Kg se presentaron efectos como una baja actividad prensil, además de la pasividad en el ratón esto durante la primera hora luego de la administración.

Una vez que se administraron las dosis de 1250 y 625 mg/Kg no se observaron efectos secundarios en los ratones, por lo que se desarrolló con normalidad la evaluación de las DL 50 y al final del periodo de los siete días no existió mortalidad en ninguno de los grupos evaluados.

### 3.3.2. Evaluación de la DL50 de extracto lipídico de Sangorache

Para el extracto lipídico se utilizaron 12 ratones en la determinación de las DL50, se usó un grupo control y al grupo experimental se le administró el aceite en dosis de 64 mL/Kg, 32 mL/Kg, 16 mL/Kg y 8 mL/Kg respectivamente.

**Tabla 4-3:** Resultado de las DL50 para el extracto lipídico de sangorache grano

Dosis(mg/kg)	E.LIP.SG	
	#Ratones Inicio	#Ratones Muertos
64	3	0
32	3	0
16	3	0
8	3	0

Realizado por: Diego Salazar

En la evaluación del extracto lipídico de sangorache grano no se evidenció mortalidad. Sin embargo en la dosis más alta es decir la de 64 mg/kg se pudo observar efectos secundarios como una actividad motora baja, además se observó al ratón pasivo todo esto después de 8 horas de la administración, a las 6 horas de administrado el extracto se observó la presencia de diarrea y la misma finalizó después de 24 horas de la administración.

En la dosis de 32 mL/ Kg se observó pasividad en el ratón durante las primeras 2 horas después de la administración. A dosis de 16 y 8 mL/Kg no se evidencio ninguna clase de efectos secundarios durante los 7 días que duro el periodo de evaluación (Anexo 6). Al finalizar la evaluación de las DL 50 en el grupo del extracto lipídico grano no existió mortalidad.

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

Realizar el control de calidad en la materia prima es de suma importancia, ya que los excipientes deben cumplir con ciertos parámetros para garantizar la inocuidad y calidad en la elaboración del gel, por tal razón se debe cumplir con las siguientes especificaciones que se encuentran validadas en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP).

#### 3.4.1. Agua purificada

**Tabla 5-3:** Parámetros y especificaciones para el control de calidad del agua purificada

Parámetros	Especificaciones	Resultados
<b>Descripción</b>	Debe ser un líquido transparente, incoloro e inodoro	Conforme a la especificación
<b>Ph</b>	Debe estar de 5,0 a 7,5	6,05
<b>Conductividad</b>	No debe ser menor a 0.13 $\mu$ S/cm	0,15 $\mu$ S/cm
<b>Cloruros</b>	No debe existir opalescencia en la solución después de 15 minutos.	Conforme a la especificación
<b>Sulfatos</b>	Sin turbidez.	Conforme a la especificación
<b>Calcio</b>	Sin turbidez.	Conforme a la especificación
<b>Solidos Totales</b>	No deberá ser mayor a 1 mg	0,75 mg
<b>Microbiológico</b>	Aerobios totales: <10 ufc/g	Conforme a la especificación
	Mohos y levaduras: Ausencia	Conforme a la especificación
	Patógenos: Ausencia	Conforme a la especificación

Realizado por: Diego Salazar

Por lo expuesto anteriormente se garantizar la calidad del agua utilizada en la elaboración del gel, ya que se está cumpliendo con todas las especificaciones que se encuentran en la USP 35.

### 3.4.2. Carbopol

**Tabla 6-3:** Parámetros y especificaciones para el control de calidad del agua purificada

<b>Parámetros</b>	<b>Especificaciones</b>	<b>Resultados</b>
<b>Descripción</b>	Polvo blanco, ligero, de olor tenue y característico. Higroscópico.	Satisfactorio
<b>Solubilidad</b>	Después de neutralizar con hidróxidos alcalinos, es soluble en agua, en alcohol.	Satisfactorio
<b>Identificación</b>	Ajustando a un pH de 7,5 con solución 1N de hidróxido de sodio, forma un gel sumamente viscoso.	Positivo
<b>Microbiológico</b>	Aerobios Totales: <100 ufc/g	Satisfactorio
	Mohos y Levaduras: <10 ufc/g	Satisfactorio
	Patógenos: Ausencia	Ausente

Realizado por: Diego Salazar

### 3.4.3. Goma xantan

**Tabla 7-3:** Resultado del Control de calidad para goma xantan

<b>Parámetros</b>	<b>Especificaciones</b>	<b>Resultados</b>
<b>Descripción</b>	Es un polvo fino blanco e inodoro	Satisfactorio
<b>Solubilidad</b>	Soluble en agua fría o caliente dando soluciones altamente viscosas	Satisfactorio
<b>pH</b>	La solución acuosa es neutra al tornasol.	7
<b>Microbiológico</b>	Aerobios Totales: <100 ufc/g	Satisfactorio
	Mohos y Levaduras: <10 ufc/g	Satisfactorio
	Patógenos: Ausencia	Ausente

Realizado por: Diego Salazar

### 3.4.4. Dimeticona

**Tabla 8-3:** Control de calidad para dimeticona

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Descripción	Líquido claro nuboso con un color ligeramente ámbar de olor característico	Satisfactorio
Viscosidad	190 - 220 centistokes	201cp
Densidad	0,964 – 0,972 g/MI	0,978 g/MI
Perdida por secado	Máximo 0,3%	0,29%

Realizado por: Diego Salazar

### 3.4.5. Croduret

**Tabla 9-3:** Control de calidad para croduret

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Descripción	Mezcla semisólida amarillento, derivado del aceite de castor, emulsificante y lubricante.	Satisfactorio
Solubilidad	Soluble en agua, etanol y acetona.	Satisfactorio
Índice de Saponificación	Entre 50,0 a 60,0 mg KOH/g	55 mg KOH/g

Realizado por: Diego Salazar

### 3.4.6. Metilparabeno sódico

**Tabla 10-3:** Control de calidad para Metil parabeno sódico

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Descripción	Polvo cristalino blanco de tenue olor característico y sabor quemante leve	Satisfactorio
Solubilidad	fácilmente soluble en alcohol y éter	Satisfactorio
Punto de Fusión	125 - 128°C	126,1°C
pH	Entre 9,5 y 10,5	10,3
Microbiológico	Aerobios Totales: <100 UFC/g	Satisfactorio
	Mohos y Levaduras: <10 UFC/g	Satisfactorio
	Patógenos: Ausencia	Ausente

Realizado por: Diego Salazar

### 3.4.7. Glicerina

**Tabla 11-3:** Control de calidad glicerina

Parámetros	Especificaciones	Resultados
<b>Descripción</b>	Líquido siruposo claro e incoloro, de sabor dulce y no más de un ligero olor característico.	Satisfactorio
<b>Color:</b>	Visto contra una superficie blanca, no es más oscura en comparación a un estándar (0,4 mL de cloruro férrico en 50 mL de agua).	Satisfactorio
<b>Identificación</b>	Se forma un anillo azul en la interface de los líquidos.	Positivo
<b>Solubilidad</b>	Miscible en agua, alcohol y metanol. Insoluble en cloroformo y éter.	Satisfactorio
<b>Densidad</b>	No menor de 1,249 g/mL	1,232 g/MI
<b>Cloruros</b>	No debe haber presencia de precipitado blanco.	Satisfactorio
<b>Sulfuros</b>	No debe haber presencia de precipitado blanco.	Satisfactorio
<b>Microbiológico</b>	Aerobios Totales: <100 ufc/g	Satisfactorio
	Mohos y Levaduras: <10 ufc/g	Satisfactorio
	Patógenos: Ausencia	Ausente

Realizado por: Diego Salazar

### 3.4.8. Propil parabeno sódico

**Tabla 12-3:** Control de calidad Propil parabeno sódico

Parámetros	Especificaciones	Resultados
<b>Descripción</b>	Polvo cristalino blanco, inodoro o con algún olor característico. Higroscópico.	Satisfactorio
<b>Identificación</b>	Llevar a Ignición cerca de 0,3 g de muestra, enfriar y disolver el residuo en 3 mL de HCl 3N. Esta solución impregnada en un asa de platino imparte un intenso y persistente color amarillo a la llama.	Positivo
<b>Solubilidad</b>	Soluble en agua y alcohol	Satisfactorio
<b>pH</b>	Entre 9,5 y 10,5 en una solución 1:100	10,51
	Aerobios Totales: <100 ufc/g	Satisfactorio
	Mohos y Levaduras: <10 ufc/g	Satisfactorio
	Patógenos: Ausencia	Ausente

Realizado por: Diego Salazar

### 3.4.9. Trietanolamina

**Tabla 13-3:** Control de calidad de la Trietanolamina

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Descripción	Líquido incoloro o amarillo pálido, viscoso e higroscópico	Satisfactorio
Identificación	A. Calentar 1 mL de la muestra lentamente en un tubo de ensayo, los vapores cambian el color del papel tornasol rojo a azul.	Positivo
	B. Mezclar 1 mL de la muestra con 1 mL de HCl; la temperatura de fusión del precipitado obtenido después de lavarlo con alcohol y secarlo es de 178 ° C aproximadamente.	Positivo
Gravedad Específica	Entre 1,120 y 1,128	1,1201 g/mL
Microbiológico	Aerobios Totales: <100 ufc/g	Satisfactorio
	Mohos y Levaduras: <10 ufc/g	Satisfactorio
	Patógenos: Ausencia	Ausente

Realizado por: Diego Salazar

### 3.4.10. Tween 80 (polisorbato 80)

**Tabla 14-3:** Control de calidad de tween 80

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Descripción	Líquido oleoso de color amarillo- ámbar, tiene un tenue olor característico y un sabor caliente algo amargo.	Satisfactorio
Identificación	A. 5 mL de la solución 1:20 se añade 5 mL de NaOH TS. Hervir por pocos minutos, enfriar y acidificar con HCl 3N. La solución desarrolla opalescencia.	Positivo
	B. Una mezcla Tween-Agua (60:40) forma una mezcla gelatinosa a temperatura ambiente o más baja.	Positivo
Solubilidad	Soluble en agua, en la que se produce una solución incolora, soluble en alcohol.	Satisfactorio
Densidad	1,06 – 1,09 g/mL	1,061 g/mL
pH	6,0 – 8,0	7,99

Realizado por: Diego Salazar

Como se puede observar en cada una de las tablas antes descritas, se cumple satisfactoriamente con cada una de las especificaciones descritas en la USP para los excipientes utilizados en la formulación de los distintos geles de sangorache, garantizando así que los excipientes usados son de calidad e inocuos.

### 3.5. Control de calidad del producto terminado

Para garantizar la inocuidad y calidad de los geles elaborados a partir de los extractos tanto etanólicos como lipídicos de hoja y grano de sangorache, se evaluaron los parámetros que se describen en la siguiente tabla con el fin de cumplir con las especificaciones que nos da la USP,

**Tabla 15-3:** Control de calidad del gel de extracto lipídico

	PARÁMETROS ORGANOLEPTICOS			PÁRAMETROS FISICOS	
	COLOR	OLOR	ASPECTO	pH	EXTENSIBILIDAD
<b>E.LIP.SG.1%</b>	Ligeramente amarillo	Característico al Sangorache	Gel untuoso	5,97	4,0
<b>E.LIP.SG.2%</b>	Ligeramente amarillo	Característico al Sangorache	Gel untuoso	6,00	3,8

Realizado por: Diego Salazar

**Tabla 16-3:** Control microbiológico del gel de extracto lipídico

	PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS		
	Aerobios Mesófilos	Coliformes Totales	Hongos y levaduras
<b>E.LIP.SG.1%</b>	Conforme	Ausencia	Conforme
<b>E.LIP.SG.2%</b>	Conforme	Ausencia	Conforme

Realizado por: Diego Salazar

**Tabla 17-3:** Control de calidad de los geles de extractos etanólicos de hoja y grano de Sangorache

	PARÁMETROS ORGANOLEPTICOS			PÁRAMETROS FISICOS	
	COLOR	OLOR	ASPECTO	pH	EXTENSIBILIDAD
<b>E.ETA.SG.1%</b>	Transparente ligeramente amarillo	Característico al Sangorache	Gel untuoso	5,83	3,7
<b>E.ETA.SG.2%</b>	Transparente ligeramente amarillo	Característico al Sangorache	Gel untuoso	5,90	3,8
<b>E.ETA.SH.1%</b>	Verde transparente	Característico al Sangorache	Gel untuoso	5,82	3,8
<b>E.ETA.SH.2%</b>	Verde transparente	Característico al Sangorache	Gel untuoso	5,85	3,9

Realizado por: Diego Salazar

**Tabla 18-3:** Control microbiológico del gel de extracto etanólico de hoja y grano de Sangorache

	PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS		
	Aerobios Mesófilos	Coliformes Totales	Hongos y levaduras
<b>E.ETA.SG.1%</b>	Conforme	Ausencia	Conforme
<b>E.ETA.SG.2%</b>	Conforme	Ausencia	Conforme
<b>E.ETA.SH.1%</b>	Conforme	Ausencia	Conforme
<b>E.ETA.SH.2%</b>	Conforme	Ausencia	Conforme

Realizado por: Diego Salazar

En los geles elaborados a partir del extracto lipídico de grano de sangorache su color es ligeramente amarillento esto se debe al color que tenía el extracto, además su olor es característico al sangorache, es un gel untuoso lo que permite que se aplique con facilidad, además al ser un gel con base lipídica este tiene mayor afinidad con la piel y se puede absorber sin ningún inconveniente.

Los geles elaborados con extractos etanólicos tanto de hoja como de grano tienen un olor característico al sangorache, además su aspecto es untuoso facilitando la aplicación sobre la herida, el color para el gel de extracto etanólico de grano es transparente ligeramente amarillo, en cambio

en el gel con extracto etanólico de hoja su color es transparente verdoso, esto se debe a que en el extracto etanólico de la hoja se encuentra contenida la clorofila de la misma por lo que le da ese color verdoso.

Como se puede observar en la tabla 15-3 y en la 17-3, los pH de los geles se encuentran dentro del rango 4-7 que determina la USP 35 por lo que los geles que se elaboraron cumplen con este parámetro, cabe recalcar que se realizó una prueba de irritabilidad en ratones la cual no presento ningún tipo de reacción por lo que se garantiza que la aplicación del gel no causa daño sobre la piel. Además se evaluó la extensibilidad de los geles por lo que los valores que se pueden observar en las tablas antes mencionadas están conformes con lo estipulado en la misma USP 35 antes mencionada la cual nos indica que la extensibilidad del gel debe ser máximo de 4,5 cm.

En las tablas 16-3 y 18-3 se puede observar claramente que los todos los geles de Sangorache de las distintas concentraciones y extractos cumplen con el control microbiológico basándonos en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 35) la misma que nos indica que no debe existir coliformes totales, además el recuento en aerobios debe ser menor a 100 ufc/mL y se le califica con conforme, y finalmente para hongos y levaduras el valor del recuento de estos debe ser menor a 10 ufc/mL y de igual manera el cumplimiento de este parámetro se lo califica con conforme, por lo que se está cumpliendo con el control microbiológico que nos garantiza inocuidad y calidad en los geles ya que al no cumplir con este parámetro se podría poner en riesgo la estabilidad del producto y la salud del paciente.

### **3.6. Actividad cicatrizante de los geles de los diferentes extractos**

Para evaluar la actividad cicatrizante se formaron grupos experimentales de tres ratones cada uno, se usó ratones *Mus musculus*. Se aplicó el gel correspondientemente a cada uno de los grupos dos veces al día por un periodo de 15 días que duró la evaluación, antes de la aplicación del gel se limpió el área de la herida con suero fisiológico, para evidenciar el progreso en la recuperación de la herida se tomaron fotos de las heridas al primer día, al tercero, al quinto, al octavo, al onceavo, al treceavo y al quinceavo día, al finalizar el periodo de evaluación se utilizó el software IMAGEJ, para poder procesar las fotografías y así obtener las áreas de las heridas con una mayor precisión.(Anexo 14)

**Tabla 19-3:** Promedio de las áreas cicatrizadas durante 15 días

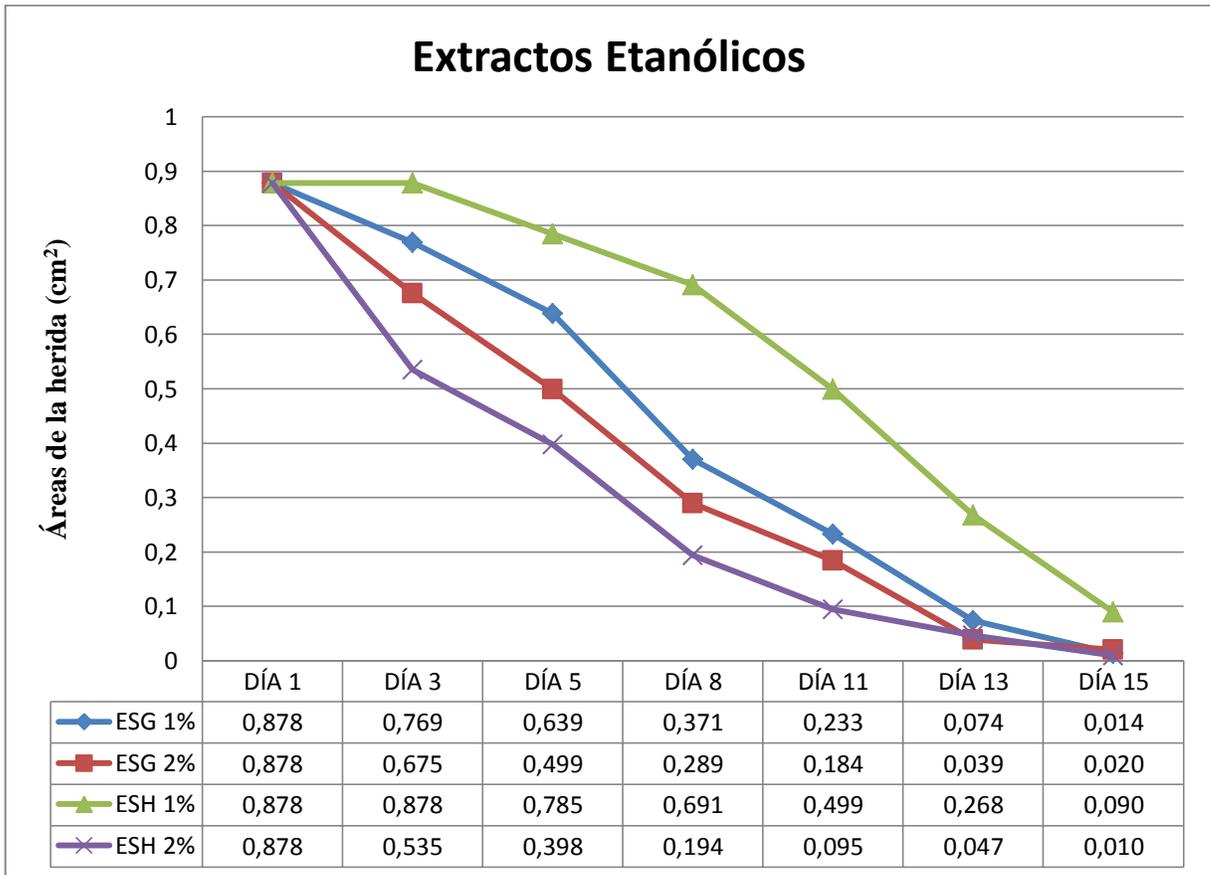
<b>Muestra</b>	<b>Día 1</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 8</b>	<b>Día 11</b>	<b>Día 13</b>	<b>Día 15</b>
	<b>Área (cm<sup>2</sup>)</b>						
<b>E.LIP .SG.1%</b>	0,878	0,749	0,628	0,357	0,199	0,038	0,022
<b>E.LIP.SG.2%</b>	0,878	0,649	0,458	0,235	0,105	0,021	0,018
<b>E.ETA.SG.1%</b>	0,878	0,769	0,639	0,371	0,233	0,074	0,014
<b>E.ETA.SG.2%</b>	0,878	0,675	0,499	0,289	0,184	0,039	0,020
<b>E.ETA.SH.1%</b>	0,878	0,878	0,785	0,691	0,499	0,268	0,090
<b>E.ETA.SH.2%</b>	0,878	0,535	0,398	0,194	0,095	0,047	0,010
<b>Vehículo</b>	0,878	0,762	0,623	0,517	0,430	0,308	0,113
<b>Trolamina</b>	0,878	0,680	0,504	0,275	0,056	0,023	0,015

Realizado por: Diego Salazar

La tabla anterior hace referencia al promedio de las áreas de las heridas en cada uno de los distintos grupos experimentales, de esta forma se puede evidenciar el progreso en el proceso de cicatrización durante el periodo de evaluación. Todas las heridas que se realizaron en los ratones tuvieron un área inicial de 0,878 cm<sup>2</sup> al finalizar los quince días de evaluación el suero fisiológico alcanzo un área de 0,113 cm<sup>2</sup>. Mientras que el estándar que fue la trolamina alcanzo un área de 0,015 cm<sup>2</sup>.

En los grupos a los cuales se les aplico el gel con extracto lipídico de sangorache grano al 1% y al 2% los resultados finales referentes al área de cicatrización fueron de 0,022 cm<sup>2</sup> y 0,018 cm<sup>2</sup> respectivamente. Para los grupos de los geles etanólicos se obtuvo una medida final de 0,014 cm<sup>2</sup> en sangorache grano al 1%, 0,020 cm<sup>2</sup> en sangorache grano al 2%, 0,090 cm<sup>2</sup> en sangorache hoja al 1% y 0,010 cm<sup>2</sup> en sangorache hoja al 2%.

**Figura 1-3:** Evolución del proceso de cicatrización en geles etanólicos

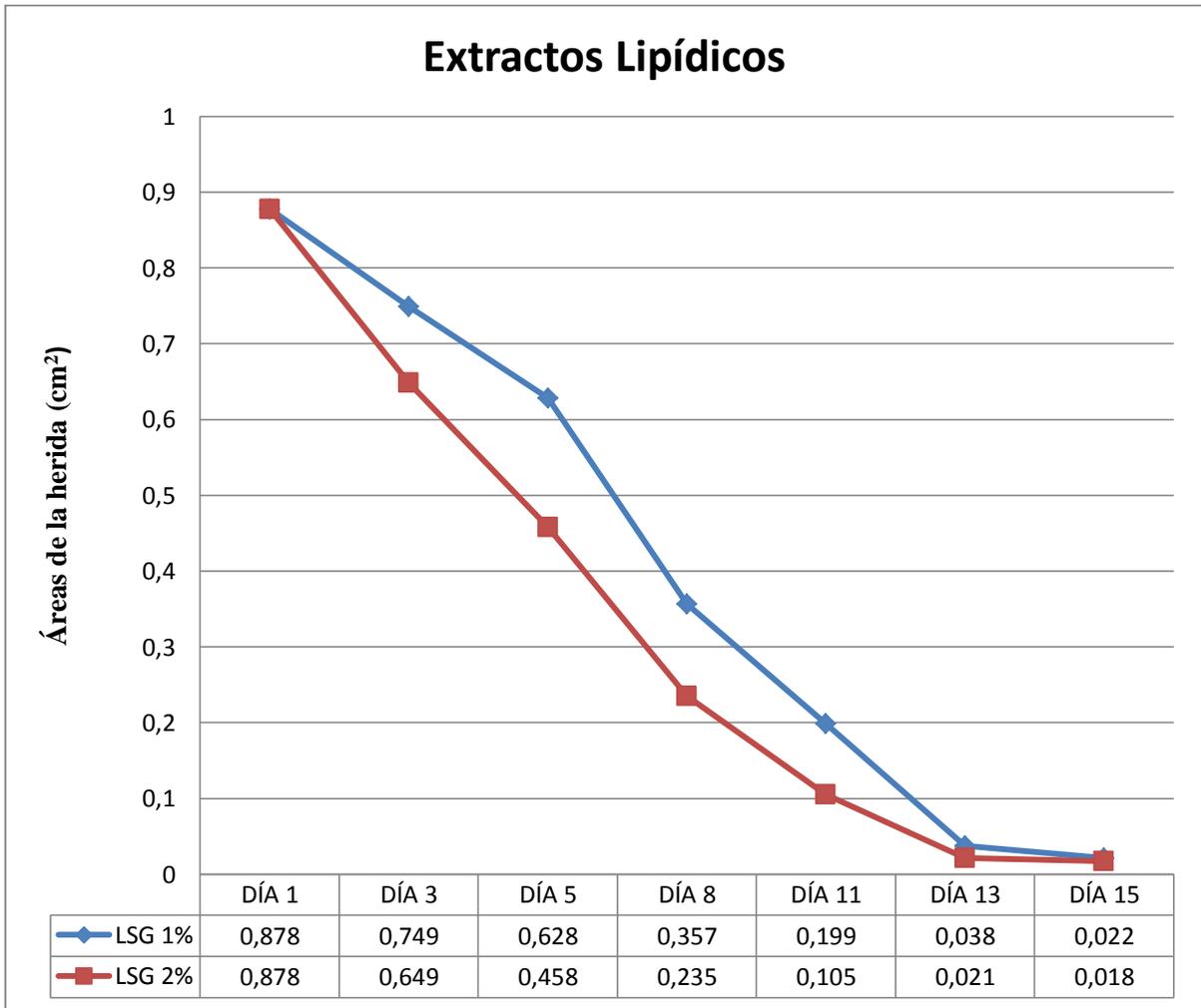


**Realizado por:** Diego Salazar

En la figura se puede ver claramente la evolución de la herida aplicando los geles de extractos etanólicos, la figura nos muestra las medidas del área de la herida desde el inicio del periodo de evaluación hasta el quinceavo día en que finaliza la evaluación.

Se puede ver que el gel que a tenido u impacto favorable en el proceso de cicatrización de la herida en cuanto a la reducción de la misma fue el gel de extracto etanólico de sangorache hoja al 2% llegando a tener un área de 0,010 cm<sup>2</sup> al finalizar el periodo de evaluación.

**Figura 2-3:** Evolución del proceso de cicatrización en gel lipídico de sangorache grano



**Realizado por:** Diego Salazar

En esta figura se puede observar la disminución de las áreas de las heridas durante el periodo de evaluación, al aplicar el gel de extractos lipídicos de sangorache grano, se nota que al tercer día de la evaluación la diferencia entre el promedio de las medidas no es muy amplia su diferencia es de aproximadamente  $0,1 \text{ cm}^2$ . Al quinto día la diferencia es casi de  $0,2 \text{ cm}^2$ , sin embargo desde el octavo día hasta el quinceavo la diferencia no es muy amplia entre las dos concentraciones de los gels, al final del periodo de evaluación las diferencia entre las áreas de las herirás es de  $0,004 \text{ cm}^2$  exactamente.

**Tabla 20-3:** Área bajo la curva al finalizar el periodo de aplicación de los geles de Sangorache

<b>ÁREA BAJO LA CURVA DE LOS TRATAMIENTOS(cm2)</b>							
<b>VEHÍCULO</b>	<b>TROLAMINA</b>	<b>LSG 1%</b>	<b>LSG 2%</b>	<b>ESG1%</b>	<b>ESG 2%</b>	<b>ESH 1%</b>	<b>ESH 2%</b>
6,879	4,162	5,680	4,404	6,015	4,868	8,434	3,850
7,395	4,763	5,689	4,351	5,738	4,969	8,761	3,824
7,665	4,650	5,613	4,290	5,850	4,864	8,436	3,923

<b>PROMEDIO</b>	7,313	4,525	5,660	4,348	5,867	4,900	8,544	3,866
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>	0,399	0,319	0,042	0,057	0,139	0,060	0,188	0,051
<b>RSD o %CV</b>	5,460	7,059	0,734	1,306	2,371	1,214	2,203	1,328

Realizado por: Diego Salazar

**Tabla 21-3:** Análisis estadístico anova de un factor

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
<b>VEHÍCULO</b>	3	21,9385	7,312833333	0,159451083
<b>TROLAMINA</b>	3	13,5735	4,5245	0,102019
<b>Ext. LSG 1%</b>	3	16,9805	5,660166667	0,001724333
<b>Ext. LSG 2%</b>	3	13,0445	4,348166667	0,003226583
<b>Ext. ESG1%</b>	3	17,602	5,867333333	0,019351583
<b>Ext. ESG 2%</b>	3	14,701	4,900333333	0,003540333
<b>Ext. ESH 1%</b>	3	25,631	8,543666667	0,035426333
<b>Ext. ESH 2%</b>	3	11,597	3,865666667	0,002634333

Realizado por: Diego Salazar

**Tabla 22-3:** Análisis de varianza

<b>ANÁLISIS DE VARIANZA</b>						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	53,66728067	7	7,666754381	187,3518151	3,8505E-14	2,6571966
Dentro de los grupos	0,654747167	16	0,040921698			
Total	54,32202783	23				

Realizado por: Diego Salazar

El análisis estadístico de ANOVA nos ayuda a saber si existe diferencia significativa entre los datos analizados, esto se logra observando el valor de F y F crítico, se dice que existe diferencia significativa cuando el valor de F es mayor que el valor de F crítico. En la tabla 22-3, el valor de F es de 187,3518151 mientras que el F crítico es de 2,6571966 por lo que puede decir que existe diferencia significativa entre los datos, afirmando lo explicado anteriormente. Por lo cual, se realizó un test post confirmatorio aplicando el método de Dunnett's.

**Tabla 23-3:** Test post confirmatorio Dunnett's

<b>Comparación</b>	<b>Diferencia Significativa</b>	<b>q'</b>	<b>P</b>	<b>P&lt;0,050</b>
TROLAMINA vs. ESH 1%	4,019	24,326	<0,001	Yes
TROLAMINA vs. VEHÍCULO	2,788	16,876	<0,001	Yes
TROLAMINA vs. ESG 1%	1,343	8,127	<0,001	Yes
TROLAMINA vs. LSG 1%	1,136	6,874	<0,001	Yes
TROLAMINA vs. ESH 2%	0,659	3,991	0,006	Yes
TROLAMINA vs. ESG 2%	0,375	2,272	0,166	No
TROLAMINA vs. LSG 2%	0,177	1,069	0,812	Do no test

Realizado por: Diego Salazar

El test de Dunnett's se lo utiliza para comparar el tratamiento control con los distintos tratamientos aplicados en este estudio, como se puede observar en la tabla 23-3 los tratamientos en los que se aplicó el vehículo y los geles de ESH 1%, ESG 1%, LSG 1% y ESH 2%, la diferencia significativa con el tratamiento control que es la trolamina es muy alta por lo que estos tratamientos no son relevantes en esta investigación.

Por otro lado el tratamiento con gel de extracto ESG 2% tiene una diferencia significativa de 0,375 con el control por lo que se puede decir que el tratamiento con ESG 2% puede tener un efecto similar a la trolamina, el efecto cicatrizante de este gel de extracto etanólico de sangorache grano al 2% se puede deber a la presencia de flavonoides en el mismo, estos flavonoides favorecen el aumento de fibroblastos maduros que a su vez sintetizan fibras de colágeno (Bolaños, 2008, p. 34) que son el componente base del tejido conectivo, además reducen la inflamación que es la fase inicial del proceso de cicatrización (Velandia, 2009, pp. 62-63)

El gel de extracto LSG 2% es el que mejor resultado dio ya que al ser analizado por el método de Dunnett's tiene una diferencia significativa de 0,177 con el tratamiento control, esto indica que este gel de extracto LSG 2% puede ser superior al control y tener un mejor efecto en el proceso de cicatrización que la propia trolamina, esto se puede deber a que el gel de extracto lipídico de sangorache grano al 2% tiene aceites esenciales los mismos que poseen propiedades antisépticas y antiinflamatorias que ayudan al proceso de cicatrización sobre todo en la fase inicial de la cicatrización (González et al, 2009, p. 30), la presencia de los ácidos grasos: palmítico, esteárico, oleico, linoléico, y linolénico ayudan en la síntesis de colágeno, incitan a la fabricación de citosina, además incrementan la cohesión celular. (Martínez y Parreras, 2009, 41-46)

### **3.7. Evaluación histopatológica**

Los parámetros histopatológicos evaluados en los cortes de tejido fueron:

- Polimorfos nucleares
- Linfocitos
- Reepitelización
- Fibras de colágeno

- Neovascularización
- Folículos pilosos.

Se evaluaron estos parámetros ya que se los consideran primordiales para el proceso de regeneración del tejido. Para esta evaluación se utilizó Microscopio óptico con lente de 10 x.

**Tabla 24-3:** Evaluación histopatológica a los 15 y 21 días después de la aplicación del gel

<b>EXTRACTO</b>							
		<b>LSG 1%</b>	<b>LSG 2%</b>	<b>ESG 1%</b>	<b>ESG 2%</b>	<b>ESH 1%</b>	<b>ESH 2%</b>
<b>Polimorfos nucleares</b>	D 15	+	++	+	++	+	+
	D 21	+	+	+	+	+	+
<b>Linfocitos</b>	D 15	+	++	+	++	+	++
	D 21	++	-	+	-	++	-
<b>Reepitelización</b>	D 15	++	+++	++	+++	++	++
	D 21	++	+++	++	+++	++	++
<b>Fibras de Colágeno</b>	D 15	+	++	++	++	+	++
	D 21	++	+++	++	+++	++	++
<b>Neovascularización</b>	D 15	+	++	+	++	+	+
	D 21	++	+++	+	+++	++	++
<b>Interpretación:</b> Abundante: +++ ; Moderado: ++ ; Escaso: + ; Negativo: -							

Realizado por: Diego Salazar

La tabla 24-3 indica la evolución histopatológica en el proceso de cicatrización, después de la aplicación de los geles de sangorache. Los primeros parámetros evaluados fueron los polimorfos nucleares y los linfocitos como se puede observar en la tabla la aplicación de los geles de extracto etanólico y lipídico de sangorache grano al 2 % son los que sobresalen en estos dos parámetros en comparación con el resto de geles, estos componentes ayudan a disminuir la inflamación que es la fase inicial del proceso de cicatrización por lo que estos geles aceleran dicho proceso. (Velandia, 2009, pp. 62-63)

La presencia de fibras de colágeno son favorables ya que estas son el componente base del tejido conectivo, como se puede observar todas las muestras a las que se les aplicó el gel tienen la presencia de este parámetro.

La reepitelización indica que el tejido se encuentra regenerándose a esto se le suma la presencia de la neovascularización que se encuentra abundantemente en los tejidos a los cuales se les aplicó los geles etanólicos y lipídicos ambos de grano de sangorache a una concentración del 2%, la presencia de neovascularización en el la muestra del tejido es importante ya que esta ayuda al transporte de células y nutrientes al tejido, además demuestra que se está dando la formación de tejido. (Velandia, 2009, pp. 62-63)

## CONCLUSIONES

1. El análisis fitoquímico de los extractos de Sangorache comprobó la existencia de compuestos que tienen actividad farmacológica estos son los aceites grasos, flavonoides, taninos, y tocoferoles, los cuales benefician al proceso de cicatrización.
2. Los extractos obtenidos a partir de Sangorache no presentaron ningún efecto tóxico sobre ratones (*Mus musculus*) por lo cual se lo puede considerar como una sustancia no nociva.
3. Los geles de Sangorache se encuentran dentro de los rangos establecidos en la USP 28 y 35 por lo que cumplieron con el respectivo control, así garantizando la inocuidad y calidad de los mismos.
4. El resultado del proceso de cicatrización se evaluó mediante la medición de las áreas de la herida corroborando el efecto cicatrizante de los geles aplicados durante el periodo de evaluación.
5. De acuerdo con la evaluación estadística del test ANOVA de un factor y test de Dunnett's se definió que el gel de extracto lipídico de grano de sangorache al 2% demostró un efecto similar o incluso puede ser mejor con relación al control en el proceso de cicatrización.
6. Como consecuencia del proceso de cicatrización, al realizar los cortes histopatológicos se distinguió la presencia de fibroblastos, fibras de colágeno, reepitelización y neovascularización que son factores fundamentales en la regeneración de tejidos

## **RECOMENDACIONES**

1. Realizar estudios para determinar la vida útil del gel, para observar la estabilidad de los componentes del mismo a largo plazo.
2. Realizar más investigaciones con Sangorache, ya que posee muchas propiedades farmacológicas además de nutricionales, que pueden ser de gran ayuda para elaborar un sin número de productos en base a la misma.
3. Formular un gel con los extractos que presentaron mejor efecto cicatrizante que fueron el extracto lipídico y etanólico del grano de sangorache al 2%, con el fin de comprobar si tiene un mayor efecto en la cicatrización.
4. Proseguir con los estudios necesarios para que el gel pueda ser utilizado en personas que tengan problemas en el proceso de cicatrización.

## BIBLIOGRAFÍA

**AKUBUGWO, I. E. et al.** Nutritional and chemical value of *Amaranthus hybridus* L. leaves from Afikpo. Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, vol. 6, N° 24 (2007), (Nigeria) pp. 2833-2839

**ALMEZ, P.** *Clorofila y pigmentos accesorios* [en línea]. España: Almez, P., 2005. [Consulta: 23 de Julio de 2015]. Disponible en <[http://almez.pntic.mec.es/~jrem0000/dpbg/Fotosintesis/clorofila\\_y\\_pigmentos\\_accesorios.html](http://almez.pntic.mec.es/~jrem0000/dpbg/Fotosintesis/clorofila_y_pigmentos_accesorios.html) >

**ALONSO G.,** *Remington Farmacia*. 20ª ed., vol. I. Buenos Aires, Argentina Editorial Médica Panamericana S.A., 2003, pp. 970-975.

**ARIAS, J. et al.,** *Fisiología Quirúrgica*. Madrid, España. Tebar, 1999, p.108

**BALSLEV, H. et al.** Ecuador: Uso y Comercio de plantas medicinales. *Herbario QCA*, N°2 (2008), (Ecuador) pp. 13-56.

**BIELSA, I.** Proceso de cicatrización de las heridas. *Elseiver*, vol.21, N°4 (2006), (España) pp.207-212

**BOLAÑOS, K.** *Uso de la miel de Chumelo (tetragonisca angustula) como coadyuvante en el proceso de cicatrización de heridas en conejos (oryctolagus cuniculus) de encaste de neozelandés.*(Tesis de Pregrado)(Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia). Universidad de el Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas Departamento de Zootecnia, El Salvador. 2008. p.34

**BRUNETON, J.** *Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas Medicinales*. 2ª ed. Zaragoza, España ACRIBIA S.A. 1993, pp.24-31

**CABARCAS, G.** *Principales alteraciones de la estética corporal* [en línea]. Slideshare, 2014 [fecha de consulta: 1 de agosto del 2015]. Disponible en: <<http://es.slideshare.net/gissellecabarcas/alteraciones-de-estetica-corporal>>

**CAÑIGUERAL, S.** *Fitoterapia Vademecum de Prescripción* [en línea]. 4ª ed. España : MASSON, 2003, [Consulta: 14 de Julio de 2015]. Disponible en: <[https://books.google.com.ec/books?id=K3V4p5Pj\\_dAC&dq=Fitoterapia+Vademecum+de+Prescripci%C3%B3n&hl=es&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.ec/books?id=K3V4p5Pj_dAC&dq=Fitoterapia+Vademecum+de+Prescripci%C3%B3n&hl=es&source=gbs_navlinks_s)>

**CIARLOTTI, F.** *Ayurveda y Rejuvenecimiento*. Buenos Aires, Argentina Ediciones Lea S.A., 2013, pp. 301-304

**COHEN, K. et al.** *Wound healing: biochemical and clinical aspects*. Philadelphia, Estados Unidos de América. Lindblad, 1992, pp. 346-347.

**COLABORADORES DE WIKIPEDIA.** *Piel de los Mamíferos* [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2015 [Fecha de consulta: 3 de agosto del 2015]. Disponible en <[https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Piel\\_de\\_los\\_mam%C3%ADferos&oldid=83255156](https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Piel_de_los_mam%C3%ADferos&oldid=83255156)>

**DE LA TORRE L. et al.** *Usos Medicinales de las Plantas: Enciclopedia de plantas útiles en el Ecuador*. Quito, Ecuador. PUCE, 2008, pp.105-114.

**DHELLOT, J.R. et al.** Extraction, chemical composition and nutritional characterization of vegetable oils: Case of *Amaranthus hybridus* (var 1 and 2) of Congo Brazzaville. *African Journal of Biotechnology*, vol. 5, N° 11 (2006), (Congo) pp. 1095-1101

**GONZALES, A. et al.** Actividad Cicatrizante de una pomada con aceite esencial de *Schinus molle* L. “MOLLE” en ganado vacuno con heridas infectadas y en ratones. *Ciencia e Investigación*, vol.1, N°12 (2009), (Perú) p. 30.

**ECUADOR, COMISIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS E INSUMOS.** Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos 9na. revisión. Revisión del Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos, Consejo Nacional de Salud. Quito. 2013, p. 36.

**ECUADOR, INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA - INIAP.** *Leguminosas y granos Andinos* [en línea]. Quito: INIAP, 2011. [Consulta: 10 de julio de 2015]. Disponible en:

<[http://www.iniap.gob.ec/nsite/index.php?option=com\\_content&view=article&id=36&Itemid=15](http://www.iniap.gob.ec/nsite/index.php?option=com_content&view=article&id=36&Itemid=15) >

**EDEL, A. et al.** *De tales harinas tales panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica*. Córdoba, España. Córdoba, 2007, pp. 248-240.

**EYNARD, A. et al.** *Histología y Embriología del ser humano: Bases celulares y moleculares*. 2ª ed. Buenos Aires, Argentina. Medica Panamericana, 2008, pp. 369 y 371.

**FUNDACIÓN DE HOGARES JUVENILES CAMPESINOS.** *El Milagro de las plantas: aplicaciones medicinales y orofaríngeas* [en Línea]. Bogotá-Colombia: San Pablo, 2005, pp. 181. [Consulta: 15 julio 2015]. Disponible en:

<[https://books.google.es/books?id=ss3tcgKqh\\_UC&dq=sangorache&hl=es&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.es/books?id=ss3tcgKqh_UC&dq=sangorache&hl=es&source=gbs_navlinks_s) >

**GOMEZ, A.** *Selección de un proceso de Transformación para la disminución de compuestos antinutricionales en el grano y hojas de Amarantho (*Amaranthus caudatus* L.) y Sangorache (*Amaranthus hybridus* L.)* (Tesis de pregrado) (Ingeniero Agroindustrial). Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Quito. 2013. pp. 10-15

**GUAPIL, J. M.** *Caracterización Bromatológica y fitoquímica de los granos y hojas del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), Amarantho (*Amaranthus caudatus* L.) y Sangorache (*Amaranthus hybridus* L.)*. (Tesis pregrado) (Ingeniero Agroindustrial). Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Agroindustrial, Riobamba. 2013. pp 40-55

**HERRERA, S. & MONTENEGRO, A.** El Amarantho: prodigioso alimento para la longevidad y la vida. *Kalpana*, N°8 (2012), (Ecuador) pp. 50-66

**KUHNEL, W.** *Atlas color de Citología e Histología*. 11ª ed. Madrid, España. Medica Panamericana, 2005, p. 438.

**LOCK DE UGAZ, O.** *Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales.* 2ª ed., Lima, Perú. PCUCP, 1994, pp. 5 ; 25-35

**MARCANO, D., & HASEGAWA, M.** *Fitoquímica Orgánica.* 2ª ed. Caracas, Venezuela Publicaciones del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, 2002, pp. 56-58

**MARTÍNEZ, F. & PARERAS, E.** La efectividad de los ácidos grasos hiperoxigenados en el cuidado de la piel perilesional, la prevención de las úlceras por presión, vasculares y de pie diabético. *Gerokomos* [en línea]. 2009, (España), vol. 20 pp. 41-46. [Consulta: 24 de julio de 2015]. ISSN 1134-928X. Disponible en:

<[http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1134-928X2009000100006&script=sci\\_arttext](http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1134-928X2009000100006&script=sci_arttext) >

**ORTUÑO, M. F.** *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes.* Madrid, España Ediciones Aiyana, 2006, pp.228-230

**PAMPLONA ROGER, J.** *Enciclopedia de Plantas Medicinales,* Vol. II. Buenos Aires, Argentina Editorial SAFELIZ, S.L., 2006, p.48

**PERALTA, E. et al.** *El Ataco, Sangorache o Amaranto negro.* Ecuador. Intituto Naconal Autónomo de Investigaciones Agropecuarias – INIAP. Publicaciones Misceláneas N°. 143, Noviembre de 2008, pp. 32,45-49

**PEREZ M.,** *Bono de desarrollo humano información y datos importantes* [en línea]. Discapacidadonline, 2010 [Fecha de consulta: 2 de junio del 2015]. Disponible en <<http://www.discapacidadonline.com/bono-de-desarrollo-humano-informacion-y-datos-importantes.html> >

**PEREZ, P.** *Fitoterapia y otras terapias energéticas.* [en línea]. España: Farmacia del Alba, 2015. [Consulta: 13 de julio 2015]. Disponible en: <<http://farmaciadelalba.com/servicios/fitoterapia.html>>

**PROEcuador.** *Boletín de Análisis de Mercados Internacionales.* (Revista Boletín), Vol. 3, N°. 7. Julio/Agosto 2014, Ecuador, pp. 16-17. <<http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2014/08/BoletinJUL-AGO-final2.pdf> >

**PROGRAMA IBEROAMERICANO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA EL DESARROLLO.** *Manual de Técnicas de investigación.* Madrid – España. Cyted. 1995, pp.49-50

**RODRÍGUEZ, E. et al.,** *Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio.* San Jose, Costa Rica. Editorial Universidad de Costa Rica. 2005, pp. 19,141

**SABOTTA, W. & WELSH, U.** *Histología.* 2ª ed. Madrid, España. Medica Panamericana, 2006, pp. 369,550, 553 y 557.

**SERRANO, V. et al.** *Ciencia Andina* [en línea]. 2º Edición. Quito-Ecuador: Abya-Yala, 1997. [Consulta: 12 julio 2015]. Disponible en: <<https://repository.unm.edu/bitstream/handle/1928/10527/Ciencia%20andina.pdf?sequence=1>>

**TORRES, L..** *Plantas que Curan.* [En línea], Todo simple, 2011 [Fecha de consulta: 05 de mayo del 2015]. Disponible en <<http://www.plantasquecuran.com/plantas-medicinales/romero.html> >

**VELANDIA, D.,** *Evaluación de la actividad cicatrizante y caracterización fitoquímica de Dracontium croati.* (Tesis Maestría)(Magister en ciencias Farmacéuticas). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, Bogotá. 2009. pp. 62 - 63

**VILLAR, M. & VILLAVICENCIO, O.** *Manual de Fitoterapia* [en Línea]. Lima – Perú: EsSalud, 2001. [Consulta: 11 julio 2015]. Disponible en: <<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/intro.pdf>>

## ANEXOS

### ANEXO A: OBTENCIÓN EXTRACTO ETANÓLICO



Molienda y Pesado del Sangorache

Realizado por: Diego Salazar



Maceración de grano y hoja de Sangorache

Realizado por: Diego Salazar



Concentración del extracto etanólico de Sangorache

Realizado por: Diego Salazar

## ANEXO B: OBTENCIÓN EXTRACTO LIPÍDICO



Maceración con hexano para la obtención de extractos lipídicos

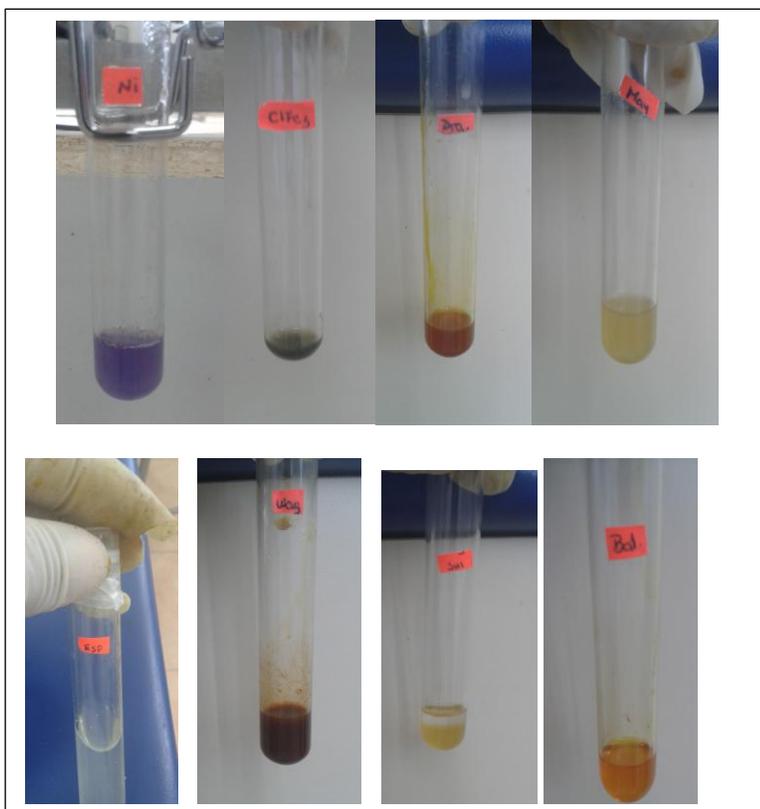
Realizado por: Diego Salazar



Método soxhlet y concentración para obtención del extracto lipídico

Realizado por: Diego Salazar

### ANEXO C: ANÁLISIS FITOQUÍMICO



Realizado por: Diego Salazar

## ANEXO D: DETERMINACIÓN DL 50



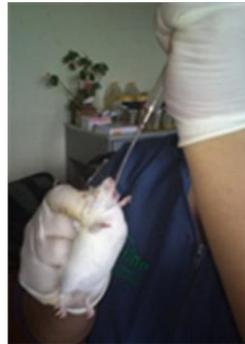
Pesar a los ratones



Preparar solución a administrar



Lubricar la cánula



Se administra la dosis

Realizado por: Diego Salazar

## ANEXO E: PARAMETROS DE OBSERVACIÓN PARA DL50

### PAUTAS DE OBSERVACIÓN

TIPO DE ANALISIS: \_\_\_\_\_ CONCENTRACIÓN : \_\_\_\_\_  
 ANIMAL N°: \_\_\_\_\_ DOSIS: \_\_\_\_\_  
 SEXO DEL ANIMAL: \_\_\_\_\_ mL TEORICOS: \_\_\_\_\_  
 PESO DEL ANIMAL: \_\_\_\_\_ mL ADMINISTRADOS: \_\_\_\_\_  
 EXTRACTO ANALIZADO: \_\_\_\_\_ HORA DE ADMINISTRACIÓN: \_\_\_\_\_  
 FECHA DE ANÁLISIS \_\_\_\_\_ ANALISTA: \_\_\_\_\_

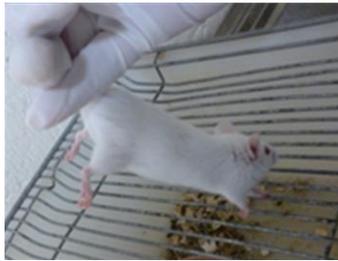
TIEMPO DE POST ADMINISTRACIÓN	10 min	30 min	1h	3h	6h	10h	24h	2d	3d	4d	5d	6d	7d
Disminución de actividad motora													
Aumento de actividad motora													
Ataxia													
Pérdida de reflejo de enderezamiento													
Mucosas pálidas													
Mucosas cianóticas													
Erección de la cola													
Pilo erección													
Diarrea													
Pasivo													
Agresivo													
Actividad prensil													
Reflejo corneal													
Equilibrio													
Test de Chimenea (nueromuscular)													
Micción													
mortalidad													

Realizado por: Diego Salazar

## ANEXO F: PARÁMETROS EVALUADOS EN DL 50



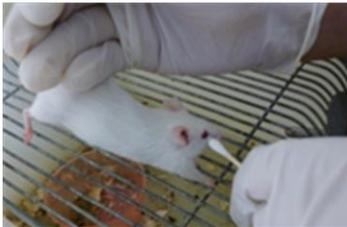
Disminución de la actividad motora



Actividad prensil



Erección de la cola



Reflejo corneal



Test de chimenea



Equilibrio

Realizado por: Diego Salazar

## ANEXO G: ENSAYO PARA IRRITABILIDAD



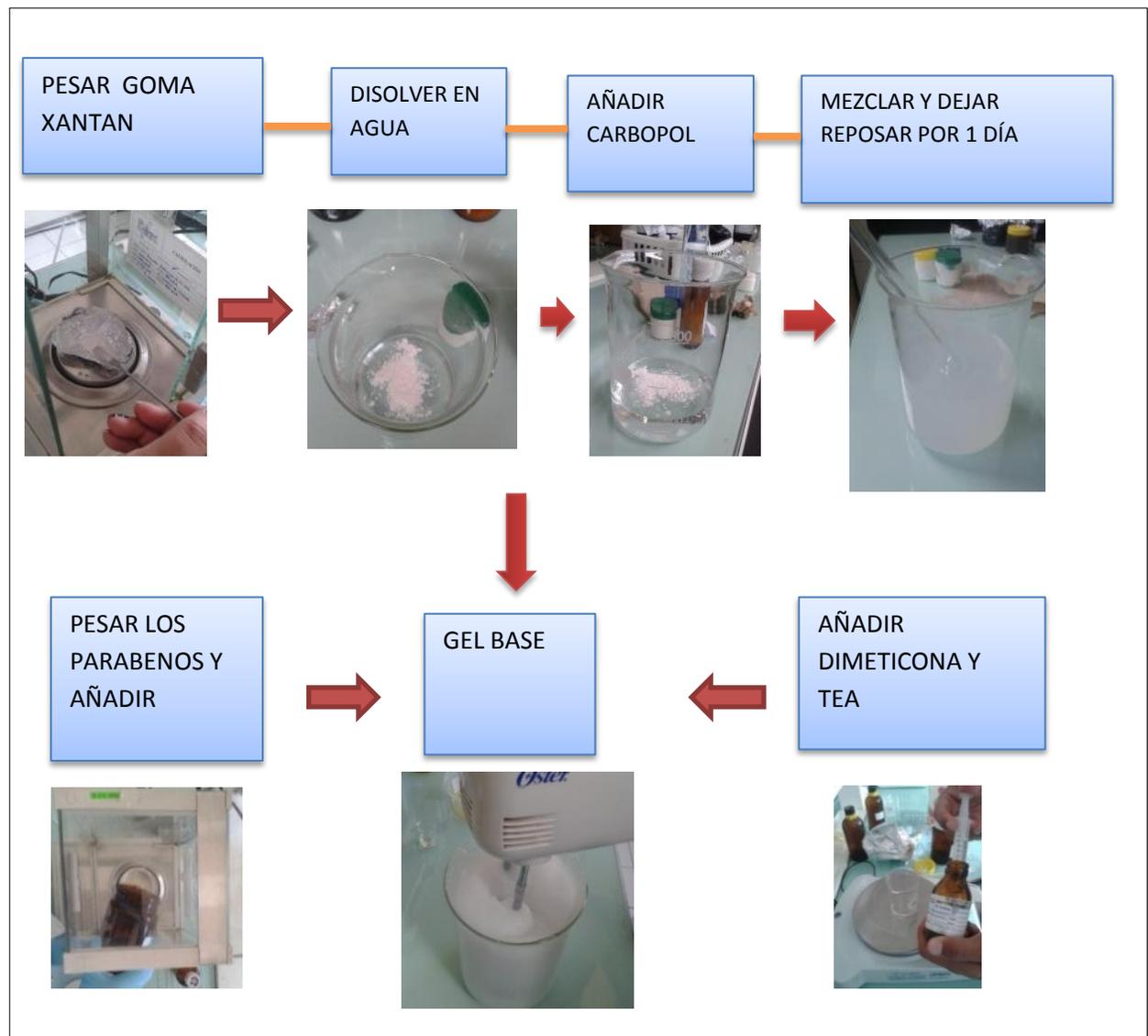
Depilación



Aplicación del extracto

Realizado por: Diego Salazar

## ANEXO H: ELABORACIÓN DE GEL BASE



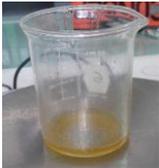
Realizado por: Diego Salazar

## ANEXO I: ELABORACIÓN DE LA FASE OLEOSA

PESAR 1 g DE EXTRACTO.	AÑADIR LA GLICERINA CRODURET Y TWEEN 80	OBTENER UNA MESCLA HOMOGÉNEA
	 	

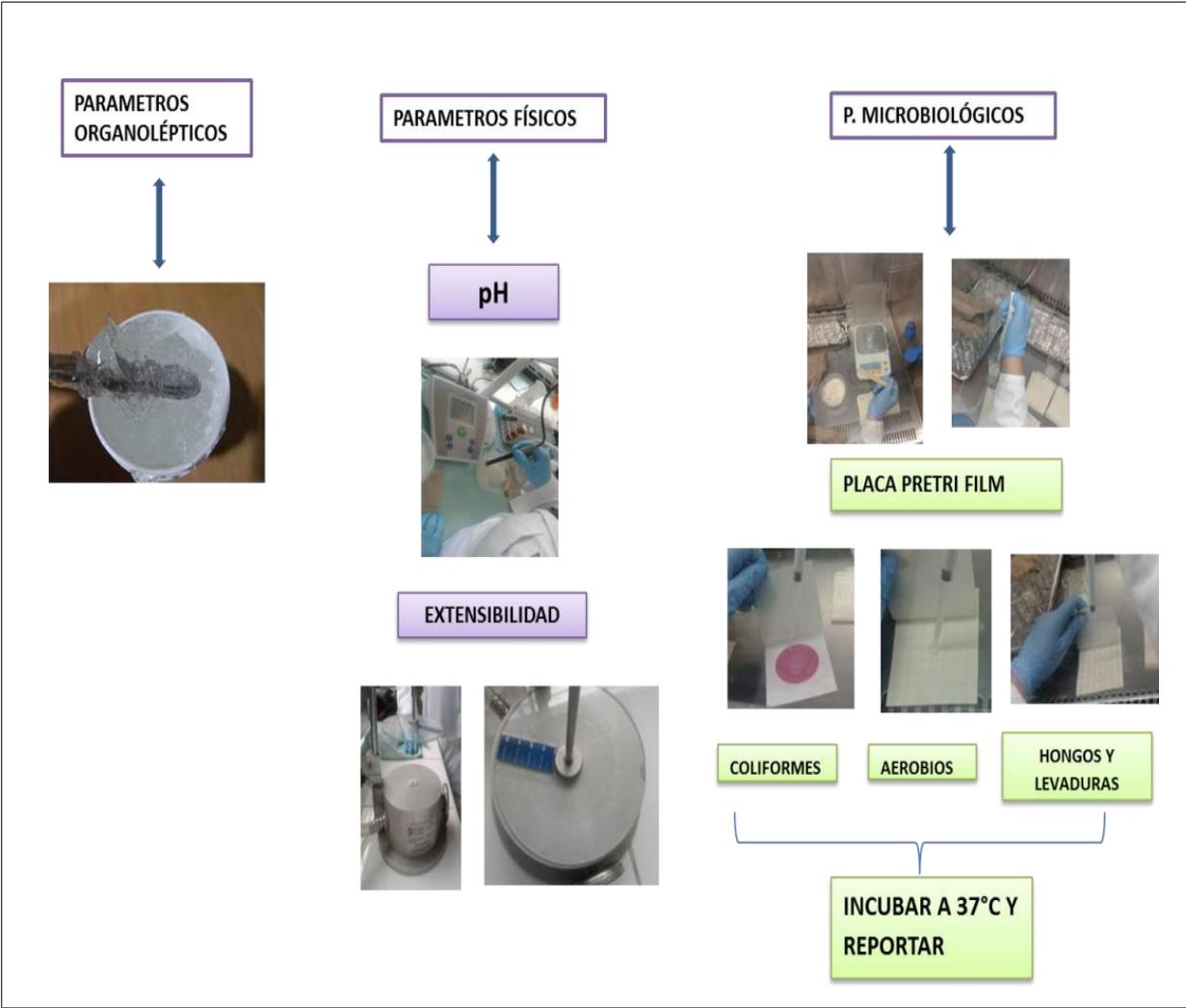
Realizado por: Diego Salazar

## ANEXO J: ELABORACIÓN DEL GEL

GEL BASE	FASE OLEOSA	GEL LIPIDICO		
	+		=	
			=	
		EXTRACTO ETANOLICO		GEL ETANOLICO

Realizado por: Diego Salazar

**ANEXO K: CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES**



Realizado por: Diego Salazar

## ANEXO L: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE



Realizado por: Diego Salazar

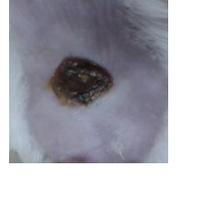
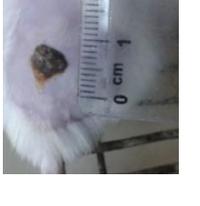
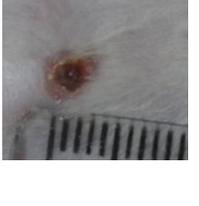
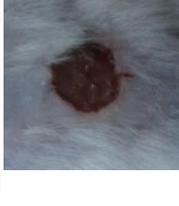
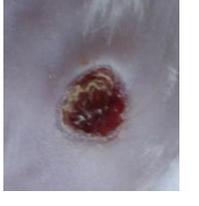
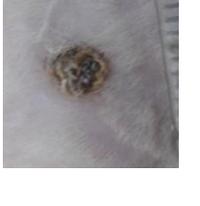
## ANEXO M: PROCESO PARA LA EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA



Realizado por: Diego Salazar

**ANEXO N: REDUCCIÓN DEL ÁREA DE LA HERIDA EN EL PERIODO DE EVALUACIÓN DE 15 DÍAS**

<b>GELES</b>	<b>DÍA 1</b>	<b>DÍA 3</b>	<b>DÍA 5</b>	<b>DÍA 8</b>	<b>DÍA 11</b>	<b>DÍA 13</b>	<b>DÍA 15</b>
<b>E.LIP .SG.1%</b>							
<b>E.LIP.SG.2%</b>							
<b>E.ETA.SG.1%</b>							
<b>E.ETA.SG.2%</b>							

<b>E.ETA.SH.1%</b>							
<b>E.ETA.SH.2%</b>							

Realizado por: Diego Salazar