



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LA  
PLANTA SALVIA REAL (*Salvia sagittata*) MEDIANTE LESIONES  
INDUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN:**

**TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL**

**Previo a la obtención del Título de:**

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: SANDRA PATRICIA DÍAZ GARCÍA**

**TUTORA: DRA. SUSANA ABDO M.Sc.**

**RIOBAMBA-ECUADOR**

**2018**

**©2018, Sandra Patricia Díaz García**

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

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

El Tribunal certifica que el Trabajo de Titulación: “**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LA PLANTA SALVIA REAL** (*Salvia sagittata*) **MEDIANTE LESIONES INDUCIDAS EN RATONES** (*Mus musculus*)”, de responsabilidad de la Señorita Sandra Patricia Díaz García, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

**NOMBRE**

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Susana Abdo., M.Sc.

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DIRECTORA DEL TRABAJO  
DE TITULACIÓN**

BQF. John Quispillo., M.Sc.

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Yo, Sandra Patricia Díaz García, declaro que el contenido, ideas, doctrinas que se presenta en este trabajo de titulación son de mi responsabilidad, los resultados son verídicos y el patrimonio intelectual de este trabajo de titulación, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

---

**SANDRA PATRICIA DÍAZ GARCÍA**

**C.I. 060470573-1**

## **DEDICATORIA**

A Dios por ser mi guía espiritual y darme fortaleza y estar junto a mí en todo momento.

A mis padres Patricio y Liliana, hermanas Ximena y Lolita por ser mi apoyo moral y ser incondicionales durante mi carrera estudiantil.

A mi abuelita Lolita de Díaz, que desde el inicio de mi carrera me acompañó y hoy lo hace desde el cielo.

Sandra

## AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la vida y ser mi fuente de inspiración diaria para llegar a culminar esta carrera.

A mis padres y hermanas por ser el pilar fundamental ya que han sabido darme los consejos para seguir adelante aún en los momentos difíciles.

A mis tíos que han sabido ayudarme para hallar solución a las situaciones en las que me encontraba.

A ti, gracias amor por formar parte de mi vida, por su apoyo incondicional y estar presente en todos los momentos tanto buenos como malos.

A todos mis amigos por su amistad, consejos y ayuda que supieron brindarme durante toda mi carrera.

Mi agradecimiento especial y sincero a mi tutora Dra. Susana Abdo M.Sc. por ser mi consejera y guía, que con sus amplios conocimientos llegué a culminar el presente trabajo de titulación.

También agradezco a mi colaborador BQF. John Quispillo M.Sc, que al formar parte del presente trabajo ha sabido brindarme sin ningún impedimento sus valiosos conocimientos.

Al BQF. Diego Vinueza M.Sc., por su desinteresada colaboración y por brindarme su amistad, ya que supo guiarme en el avance y culminación exitosa de esta investigación.

A la Ing. Carla Haro, Bqf. Yolanda Buenaño y Bqf. Benjamín Román responsable de los laboratorios que con su paciencia y consejos supieron guiar de mejor manera mi trabajo de investigación.

Finalmente, agradezco a los profesores de la Escuela de Bioquímica y Farmacia que al compartir sus conocimientos me ayudaron a consolidar mi aprendizaje. Gracias a todos ellos.

Sandra

## TABLA DE CONTENIDO

<b>RESUMEN .....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xvi</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
 <b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1. Piel .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.1. Epidermis .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.1.1. Células de la epidermis .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.1.2. Capas de la epidermis .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.2. Dermis .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.2.1. Estructura de la dermis .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.2.2. Componentes de la dermis .....</b>	<b>8</b>
<b>1.1.3. Hipodermis.....</b>	<b>9</b>
<b>1.2. Heridas .....</b>	<b>9</b>
<b>1.2.1. Clasificación de las heridas .....</b>	<b>10</b>
<b>1.3. Cicatrización .....</b>	<b>13</b>
<b>1.3.1. Tipos de cicatrización .....</b>	<b>14</b>
<b>1.3.2. Proceso de cicatrización .....</b>	<b>15</b>
<b>1.3.3. Factores que influyen en la cicatrización .....</b>	<b>17</b>
<b>1.3.4. Factores relacionados con la mejora de la cicatrización de las heridas..</b>	<b>21</b>
<b>1.4. Metabolitos secundarios que participan en la cicatrización .....</b>	<b>22</b>
<b>1.5. Métodos empleados en la determinación de fenoles y antioxidantes....</b>	<b>25</b>
<b>1.5.1. Cuantificación de fenoles totales .....</b>	<b>25</b>
<b>1.5.2. Ensayo de la actividad antioxidante (Método DPPH*).....</b>	<b>25</b>
<b>1.6. Salvia .....</b>	<b>26</b>

1.6.1.	<i>Clasificación Taxonómica</i> .....	26
1.6.2.	<i>Familia Lamiaceae</i> .....	26
1.6.3.	<i>Género Salvia</i> .....	27
1.6.4.	<i>Descripción morfológica</i> .....	27
1.6.5.	<i>Hábitat</i> .....	28
1.6.6.	<i>Composición química</i> .....	28
1.6.7.	<i>Propiedades terapéuticas</i> .....	28
1.6.8.	<i>Toxicidad y efectos adversos</i> .....	29
1.7.	<b>Salvia real (Salvia sagittata Ruiz &amp; Pavón)</b> .....	30
1.7.1.	<i>Morfología</i> .....	30
1.7.2.	<i>Distribución geográfica</i> .....	31
1.7.3.	<i>Usos populares</i> .....	31

## CAPÍTULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	32
2.1.	<b>Lugar de investigación</b> .....	32
2.2.	<b>Recolección del material vegetal</b> .....	32
2.3.	<b>Reactivo biológico</b> .....	32
2.4.	<b>Descripción</b> .....	32
2.5.	<b>Equipos, materiales y reactivos</b> .....	33
2.5.1.	<i>Equipos</i> .....	33
2.5.2.	<i>Materiales</i> .....	34
2.5.3.	<i>Reactivos</i> .....	36
2.6.	<b>Técnicas y métodos</b> .....	37
2.6.1.	<i>Identificación botánica</i> .....	37
2.6.2.	<i>Acondicionamiento del material vegetal</i> .....	39
2.6.2.1.	<i>Secado</i> .....	39
2.6.2.2.	<i>Molienda</i> .....	39



<b>2.6.3.</b>	<b><i>Control de calidad del material vegetal</i></b> .....	<b>39</b>
2.6.3.1.	<i>Determinación de cenizas totales</i> .....	39
2.6.3.2.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i> .....	40
2.6.3.3.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i> .....	40
2.6.3.4.	<i>Determinación del contenido de humedad</i> .....	41
<b>2.6.4.</b>	<b><i>Tamizaje fitoquímico</i></b> .....	<b>41</b>
<b>2.6.5.</b>	<b><i>Obtención del extracto hidroalcohólico de Salvia sagittata</i></b> .....	<b>44</b>
<b>2.6.6.</b>	<b><i>Obtención del extracto liofilizado de Salvia sagittata</i></b> .....	<b>44</b>
<b>2.6.7.</b>	<b><i>Control de calidad del extracto hidroalcohólico</i></b> .....	<b>44</b>
2.6.7.1.	<i>Determinación de los requisitos organolépticos</i> .....	44
2.6.7.2.	<i>Determinación del pH</i> .....	44
<b>2.6.8.</b>	<b><i>Cromatografía en capa fina</i></b> .....	<b>45</b>
2.6.8.1.	<i>Análisis cromatográfico para flavonoides</i> .....	45
2.6.8.2.	<i>Análisis cromatográfico para aceites esenciales</i> .....	45
<b>2.6.9.</b>	<b><i>Cuantificación de fenoles totales</i></b> .....	<b>45</b>
<b>2.6.10.</b>	<b><i>Cuantificación de flavonoides totales</i></b> .....	<b>46</b>
<b>2.6.11.</b>	<b><i>Ensayo de la actividad antioxidante (Método DPPH*)</i></b> .....	<b>46</b>
<b>2.6.12.</b>	<b><i>Control microbiológico</i></b> .....	<b>47</b>
<b>2.6.13.</b>	<b><i>Determinación de la actividad cicatrizante</i></b> .....	<b>47</b>
2.6.13.1.	<i>Preparación de los geles</i> .....	47
2.6.13.2.	<i>Fase de inducción de la herida en los ratones (Mus musculus)</i> .....	47
2.6.13.3.	<i>Fase de tratamiento</i> .....	48
2.6.13.4.	<i>Examen histopatológico</i> .....	49
2.6.13.5.	<i>Análisis estadístico</i> .....	49

### **CAPÍTULO III**

<b>3.</b>	<b>ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	<b>50</b>
<b>3.1.</b>	<b>Control de calidad del material vegetal</b> .....	<b>50</b>

3.2.	Tamizaje fitoquímico.....	51
3.3.	Control de calidad del extracto hidroalcohólico.....	53
3.4.	Cromatografía en capa fina .....	53
3.4.1.	<i>Análisis cromatográfico para flavonoides</i> .....	53
3.4.2.	<i>Análisis cromatográfico para aceites esenciales</i> .....	54
3.5.	Cuantificación de fenoles totales.....	55
3.6.	Cuantificación de flavonoides totales .....	57
3.7.	Ensayo de la actividad antioxidante .....	59
3.8.	Control microbiológico.....	61
3.9.	Determinación de la actividad cicatrizante .....	61
3.10.	Análisis estadístico .....	65
3.11.	Examen histopatológico.....	67
	CONCLUSIONES.....	69
	RECOMENDACIONES .....	70
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1.</b>	Clasificación taxonómica de la Salvia.....	26
<b>Tabla 2-1.</b>	Compuestos identificados en especies de Salvia.....	28
<b>Tabla 1-2.</b>	Equipos de laboratorio empleados.....	33
<b>Tabla 2-2.</b>	Materiales de laboratorio empleados.....	34
<b>Tabla 3-2.</b>	Reactivos de laboratorio empleados.....	36
<b>Tabla 4-2.</b>	Distribución de los grupos experimentales.....	48
<b>Tabla 1-3.</b>	Resultados de los parámetros de calidad del material vegetal.....	50
<b>Tabla 2-3.</b>	Resultados del tamizaje fitoquímico de la <i>Salvia sagittata</i> .....	51
<b>Tabla 3-3.</b>	Control de calidad del extracto hidroalcohólico de <i>Salvia sagittata</i> .....	53
<b>Tabla 4-3.</b>	Posibles compuestos de flavonoides identificados en el extracto liofilizado de <i>Salvia sagittata</i> .....	54
<b>Tabla 5-3.</b>	Posibles compuestos de aceites esenciales identificados en el extracto liofilizado de <i>Salvia sagittata</i> .....	55
<b>Tabla 6-3.</b>	Cuantificación de fenoles totales del extracto liofilizado de <i>Eupatorium glutinosum</i> y <i>Salvia sagittata</i> .....	56
<b>Tabla 7-3.</b>	Cuantificación de flavonoides totales del extracto liofilizado de <i>Eupatorium glutinosum</i> y <i>Salvia sagittata</i> .....	58
<b>Tabla 8-3.</b>	Resultados del IC <sub>50</sub> .....	59
<b>Tabla 9-3.</b>	Control microbiológico de los geles de <i>Salvia sagittata</i> .....	61
<b>Tabla 10-3.</b>	Promedio de las longitudes de las heridas (cm) en ratones ( <i>Mus musculus</i> ).....	62
<b>Tabla 11-3.</b>	Promedio del ancho de las heridas (mm) en ratones ( <i>Mus musculus</i> ).....	63
<b>Tabla 12-3.</b>	Tiempo de cicatrización de los heridas (días).....	64
<b>Tabla 13-3.</b>	Análisis de Anova de un factor según el tiempo de cicatrización de las heridas.....	65
<b>Tabla 14-3.</b>	Análisis estadístico de Tukey según el tiempo de cicatrización de las heridas.....	66
<b>Tabla 15-3.</b>	Examen histopatológico de la piel de los ratones ( <i>Mus musculus</i> ).....	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b>	Estructura de la piel.....	4
<b>Figura 2-1.</b>	Tipos de cicatrización.....	15
<b>Figura 3-1.</b>	Clasificación de los flavonoides.....	24
<b>Figura 4-1.</b>	Fundamento de la reacción de Folin-Ciocalteu.....	25
<b>Figura 5-1.</b>	Conversión de radical libre DPPH a molécula DPPH-H en presencia de antioxidante.....	26
<b>Figura 6-1.</b>	Salvia real ( <i>Salvia sagittata</i> ).....	30
<b>Figura 1-2.</b>	Técnicas y métodos empleados en la investigación.....	38
<b>Figura 2-2.</b>	Esquema de extracción sucesiva del material vegetal para efectuar los ensayos respectivos del tamizaje fitoquímico.....	42
<b>Figura 3-2.</b>	Reacciones efectuadas en el extracto etéreo.....	43
<b>Figura 4-2.</b>	Reacciones efectuadas en el extracto alcohólico.....	43
<b>Figura 5-2.</b>	Reacciones efectuadas en el extracto acuoso.....	43

## ÍNDICE DE GRÁFICO

<b>Gráfico 1-3.</b> Tiempo de cicatrización en los diferentes grupos experimentales.....	66
--	----

## LISTADO DE ANEXOS

<b>Anexos A</b>	Recolección del material vegetal <i>Salvia real (Salvia sagittata)</i>
<b>Anexos B</b>	Acondicionamiento del material vegetal
<b>Anexos C</b>	Control de calidad del material vegetal
<b>Anexos D</b>	Tamizaje fitoquímico
<b>Anexos E</b>	Control de calidad del extracto hidroalcohólico
<b>Anexos F</b>	Obtención del extracto liofilizado
<b>Anexos G</b>	Cromatografía en capa fina
<b>Anexos H</b>	Cuantificación de fenoles totales
<b>Anexos I</b>	Cuantificación de flavonoides totales
<b>Anexos J</b>	Determinación de la actividad antioxidante
<b>Anexos K</b>	Preparación de los geles
<b>Anexos L</b>	Determinación de la actividad cicatrizante
<b>Anexos M</b>	Examen histopatológico
<b>Anexos N</b>	Examen microscópico de las muestras de la piel
<b>Anexos O</b>	Identificación del material vegetal
<b>Anexos P</b>	Control microbiológico de los geles <i>Salvia sagittata</i>

## RESUMEN

En la presente investigación se determinó la actividad cicatrizante del extracto liofilizado de las hojas de Salvia real (*Salvia sagittata*) mediante lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*), para lo cual se realizó el control de calidad del material vegetal y del extracto; mediante el tamizaje fitoquímico se identificó la presencia de: compuestos fenólicos, aceites, alcaloides, triterpenos, esteroides, resinas y saponinas. Para obtener el extracto liofilizado se procedió a macerar el material vegetal pulverizado en alcohol al 70%, se concentró en un rotavapor en condiciones controladas y finalmente se procedió a liofilizar. Se realizó cromatografía en capa fina para flavonoides y aceites esenciales. En la cuantificación de fenoles y flavonoides totales se obtuvo como resultados  $843.889 \pm 9.623$  mg GAE/100g y  $166.959 \pm 1.045$  mg QE/100g de extracto liofilizado respectivamente. Para la evaluación de la actividad cicatrizante se emplearon 36 ratones con lesiones inducidas, divididos en 6 grupos: control negativo (sin tratamiento), dos controles positivos (ungüento dérmico antibiótico y extracto de Matico a 200 ppm) y los extractos de *Salvia sagittata* a concentraciones de 25, 100 y 300 ppm; la aplicación de los extractos se llevó a cabo mediante la forma farmacéutica de gel. Se concluyó que el gel del extracto de *Salvia sagittata* a 300 ppm presentó un mejor efecto cicatrizante, ya que las heridas se cicatrizaron en nueve días, respecto a los 16 días del control negativo y se complementó con el examen histopatológico. Se recomienda realizar un análisis de las otras partes de la planta *Salvia sagittata* tal como raíz y tallos para conocer cual presenta la mayor actividad cicatrizante.

**Palabras clave:** <CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES> <BIOQUÍMICA>, <FARMACIA>, <SALVIA REAL (*Salvia sagittata*)>, <RATONES (*Mus musculus*)>, <ACTIVIDAD CICATRIZANTE>, <EXTRACTO LIOFILIZADO>, <LESIONES INDUCIDAS>, <GEL>

## ABSTRACT

The healing effect of the lyophilized of the *Salvia real (Salvia sagittata)* leaves extract in induced injuries of mice (*Mus musculus*) was determined. Quality control of the vegetal material and extract was carried out. Phenolic compounds, oils, alkaloids, triterpenes, steroids, resins and saponins were identified by phyto chemistry screening. Sprayed vegetal material was marinated in alcohol at 70%, then it was cocentrated in a rotary evaporator in controlled conditions and eventually, it was lyophilized to get the lyophilized extract. Thin layer chromatography about flavonoids and essential oils was also carried out. Quantification of total phenols and flavonoids we got as results  $843.889 \pm 9.623$  mg GAE/100g and  $166.959 \pm 1.045$  mg QE/100g of lyophilized extract respectively. We used 36 mice with induced injuries, which were divided into six groups as follows: negative control (without treatment), two positive controls (antibiotic skin ointment and matico extract to 200 ppm) and *Salvia sagittata* extracts to concentrations of 25, 100 and 300 ppm. The application of these extracts was carried out by gel. It is concluded that gel of *Salvia sagittata* to 300 ppm gave a better healing effect because injuries were healed in nine days regarding 16 days of negative control and it was complemented with the hispatologic test. It is recommended to carry out an analysis of the root and stem of this plant to find out which one the most healing effect has.

**Key words:** <NATURAL AND EXACT SCIENCES>, <BIO CHEMESTRY>, <DRUGSTORE>, <SALVIA REAL (*Salvia sagittata*)>, <MICE (*Mus musculus*)>, <HEALING EFFECT>, <LIOPHILIZED EXTRACT>, <INDUCED INJURIES>, <GEL>



## INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional según la Organización Mundial de la Salud (OMS) define como: “*un conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales*”. (Organización Mundial de la Salud, 2013, pp. 15)

Se estima que hay 250000 especies de plantas con flores en el mundo, entre ellas de 50000 a 70000 se emplean tanto para la medicina convencional como para la tradicional. Estas plantas proveen metabolitos que tienen efectos terapéuticos beneficiosos para la salud humana. (Jarić et al., 2018, pp. 2–4)

Las plantas medicinales se han usado desde la antigüedad ya que son conocidas sus propiedades curativas de enfermedades, prevenir infecciones, curar heridas, etc, todo esto sin producir efectos secundarios graves para la persona. En consecuencia, la terapia herbal puede ser una alternativa para el tratamiento de numerosas enfermedades, incluidas las heridas, en la actualidad los estudios científicos están dependiendo cada vez más de la medicina ancestral y están dedicados a encontrar los mecanismos efectivos de las plantas medicinales. (Jarić et al., 2018, pp. 2–4)

El Ecuador es un país megadiverso por su variedad en flora y fauna, pues posee más de 17.058 especies de plantas como lo señala el Cuarto Informe Nacional para el Convenio sobre la Diversidad Biológica, muchas de estas especies se les atribuye propiedades curativas, es por eso que ha sido objeto de varias visitas por parte de laboratorios internacionales con la finalidad de estudiar nuestro ecosistema y determinar las plantas medicinales que pueden servir para la producción de medicamentos.

Se ha definido a las heridas como cualquier alteración de la estructura anatómica normal del tejido que conduce a la pérdida de la continuidad epitelial con o sin pérdida de tejido conectivo subyacente, así como a la integridad anatómica y funcional del tejido vivo. Existen varios tipos de heridas en donde se incluyen las heridas incisas, laceradas, abrasiones, contusiones, úlceras, quemaduras, etc. (Jarić et al., 2018, p. 6)

La cicatrización de heridas es un proceso altamente dinámico y complejo que involucra múltiples tipos de células, matriz extracelular (ECM) y moléculas solubles y comprende varias fases comenzando con la hemostasia, seguida por una fase temprana inducida por la inflamación y luego la acumulación provisional de la matriz y la remodelación de la cicatriz después de la reepitelización. (Dorjsembe et al., 2017, pp. 4–5)

Sin embargo, existen numerosos factores que conducen a un retraso en la cicatrización de heridas, como microorganismos infecciosos contaminados, deficiencia nutricional, suministro de sangre interrumpido y el movimiento inadecuado de las partes del cuerpo alteradas. (Jarić et al., 2018, p. 7)

El proceso de cicatrización de heridas actualmente llama la atención al mundo de la medicina, pues existen numerosos fármacos que presentan algunas alternativas que en gran parte ayudan a restaurar la integridad de la piel, ya que las heridas son comunes en la vida cotidiana a causa de herirnos con objetos simples como cuchillo al momento de preparar alimentos, papel, vidrio, clavos o aún más grave como heridas quirúrgicas.

Para el tratamiento de las heridas, las plantas se utilizan en forma de té, decocción, tintura, ungüento, infusión, etc, ya que al ser baratas y accesibles son usadas generalmente por la población en general. Se ha definido que los medicamentos a base de plantas tienen efectos secundarios menores en comparación con los medicamentos producidos químicamente y además son más rentables económicamente. (Jarić et al., 2018, pp. 2–4)

Laboratorios farmacéuticos tanto nacionales como internacionales han concentrado sus esfuerzos en identificar los componentes activos y los modelos de acción de algunas plantas medicinales, es por eso que se están investigando varios productos a base de plantas. (Jarić et al., 2018, pp. 2–4)

Valenzuela, R y colaboradores (2011) realizaron una investigación sobre la efectividad del uso tópico de *Salvia officinalis* en la disminución del índice gingival en sujetos con gingivitis, obteniendo como resultado disminuir con mayor rapidez el índice gingival para los grupos colutorio y dentífrico que para el control. (Valenzuela et al., 2011, p. 110)

Específicamente, se debe mencionar que trabajos investigaciones exclusivos de la planta Salvia real (*Salvia sagittata* Ruiz & Pavón) sobre la actividad cicatrizante no existen en la actualidad, es por eso que este trabajo investigativo es de gran importancia pues pretende ser un aporte a la medicina natural tomando en cuenta los beneficios de curar heridas sin la necesidad de recurrir a

medicamentos que en ocasiones pueden ser costosos para la economía personal. Ante esta situación se considera importante realizar un estudio fitoquímico y farmacológico de la planta *Salvia sagittata* para determinar que posibles metabolitos serían los responsables de actividad cicatrizante en modelos animales como en ratones (*Mus musculus*) con el fin de contribuir a la salud.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Determinar la actividad cicatrizante de la planta Salvia real (*Salvia sagittata*) mediante lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*).

### **Objetivos Específicos**

- Desarrollar el control de calidad del material vegetal y del extracto de la planta *Salvia sagittata*.
- Cuantificar los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en el extracto de *Salvia sagittata*.
- Evaluar el proceso de cicatrización en ratones (*Mus musculus*) a través de controles farmacológicos y exámenes histopatológicos.

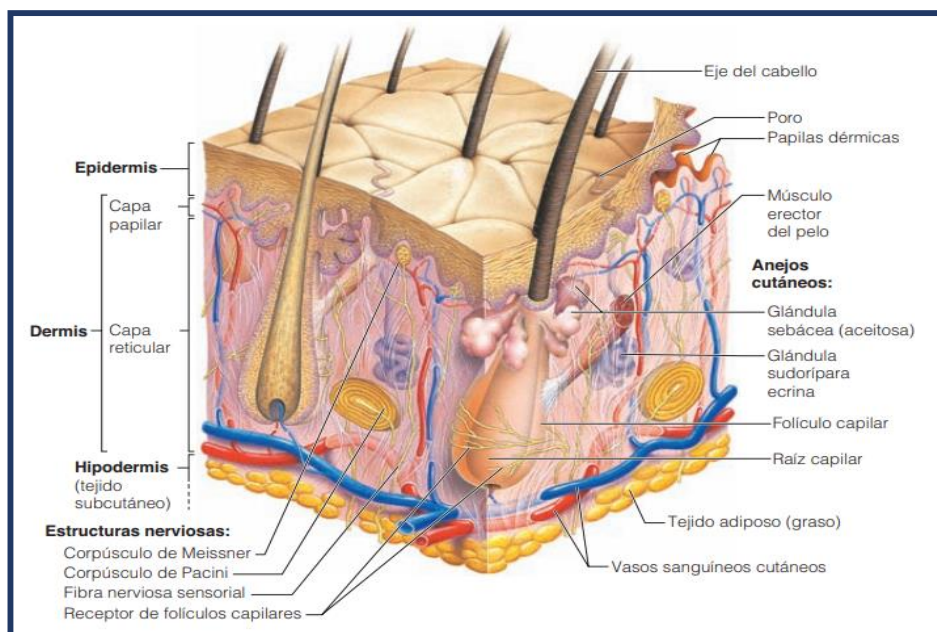
# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Piel

La piel es un sistema complejo y dinámico, conformando el órgano más amplio del cuerpo humano, con una superficie de 1,6 m<sup>2</sup> y un peso de 4 Kg, constituyendo así el 16% del peso corporal aproximadamente. Está compuesta por 3 capas: epidermis, dermis y la hipodermis. (Mojica, 2017, pp. 48–49)

La piel está conformado por células, tejidos y componentes de la matriz extracelular, los cuales participa en una diversidad de funciones como: protección frente agentes físicos (luz UV), mecánicos (golpes), químicos y bacterianos, termorregulación, cicatrización de las heridas, es un órgano sensorial frente al dolor, temperatura y tacto, crea una barrera física de permeabilidad e interviene en la síntesis de la vitamina D; todas estas funciones están intervenidas por una o varias capas de la piel. (Fitzpatrick, 2009, p. 57)



**Figura 1-1:** Estructura de la piel

Fuente: (Marieb, 2008, p. 116)

### 1.1.1. *Epidermis*

Está constituida por un epitelio poliestratificado queratinizante, donde se originan las glándulas sudoríparas, las uñas y los folículos sebáceos. Está compuesta por cuatro tipos de células: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel. (Serna et al., s.f., p. 1) Su función principal es proporcionar una barrera contra daños tanto mecánicos como del medio ambiente. (Hidalgo, 2010, p. 1)

La epidermis al ser un epitelio no posee vasos sanguíneos, por lo que se nutre por difusión a través de capilares presentes en el tejido conectivo de la dermis. Su grosor depende de la zona de la piel y de la fricción a la que está sometida, es así, que la mayoría del cuerpo humano presenta un grosor de 0,1 mm, la cual es conocida como piel delgada, mientras que la piel gruesa tiene un grosor de 0,5 a 1 mm, debido a que se encuentra expuesta a una fricción, como por ejemplo las palmas de las manos, plantas de los pies, etc. (Reiriz, s.f., p. 3)

#### 1.1.1.1. *Células de la epidermis*

a) **Queratinocitos:** conforman el 90% de las células de la epidermis y su principal función es producir una proteína llamada queratina, la misma que protege a la piel como a los tejidos subyacentes de factores como los compuestos químicos, microorganismos y el calor. (Tortora y Reynolds, 2002, p. 143) Los queratinocitos están compuestos de agua entre un 72 a 80% y de aminoácidos especialmente de cisteína. (Rodríguez et al., 2011, p. 8)

b) **Melanocitos:** constituyen el 8% de las células epidérmicas, siendo su función principal sintetizar un pigmento de color marrón-negro llamado melanina, el mismo que da protección cutánea frente a la radiación ultravioleta y contribuyendo además a la coloración de la piel. (Tortora y Reynolds, 2002, p. 143)

Los melanocitos poseen prolongaciones largas, con el fin de transportar gránulos de melanina conocidos como melanosomas hacia los queratinocitos, los cuales se agrupan, creando una capa protectora sobre el núcleo y protegiendo de esta forma al ADN nuclear de la luz UV. (Tortora y Reynolds, 2002, p. 143)

c) **Células de Langerhans:** se producen en la médula ósea, las cuáles se encuentran en los estratos: basal, espinosa y granulosa de la epidermis, alcanzando mayor densidad en los dos últimos estratos. (Calero y Ollague, 2007, p. 20) Estas células son afectadas fácilmente por la luz

UV y participa en la respuesta inmunitaria frente a los microorganismos que ingresan en la piel. (Tortora y Reynolds, 2002, p. 144)

- d) **Células de Merkel:** se encuentran en el estrato basal de la epidermis y presenta gránulos, los mismos que sirven de almacenamiento para los neuropéptidos. (Valdés et al., 2012, p. 163) Su función es actuar como mecanorreceptores de la piel, los cuales convierten los estímulos químicos, electromagnéticos o mecánicos en impulsos nerviosos y además participa en el sentido del tacto y en el movimiento direccional del pelo. (Franco et al., 2010, p. 128)

#### 1.1.1.2. *Capas de la epidermis*

La epidermis está formada por cinco estratos o capas, las mismas que están organizadas desde la más profunda hasta la más externa en: basal, espinosa, granulosa, lúcida y córnea. Todo este proceso tiene una duración de dos a cuatro semanas desde que se originan en la capa basal hasta que se produce la descamación en la capa córnea. (Reiriz, s.f., p. 3)

- a) **Capa basal o germinativa:** compuesta generalmente por una fila de queratinocitos rectangulares o cilíndricos, los mismos que se encuentran en constante división celular, produciendo grandes cantidades de células nuevas. Presentan un núcleo grande y su citoplasma contiene orgánulos celulares y gránulos de melanina. (Tortora y Reynolds, 2002, p. 145)
- b) **Capa espinosa:** formada entre ocho a diez capas de queratinocitos, en donde empieza las fases de maduración y reparación del estrato basal. Las células que se trasladan a la capa espinosa, sufren transformaciones en su morfología, es decir, pasan de ser columnares a poligonales e inmediatamente empieza la producción de la síntesis de queratina. (Valdivia et al., 2014, p. 20)
- c) **Capa granulosa:** constituidos por queratinocitos aplanados, los cuales forman entre 3 a 5 capas. Presenta en su citoplasma abundantes gránulos de queratohialina, componente precursor de la queratina. Los núcleos de estas células al eliminarse, ya no pueden realizar sus funciones metabólicas vitales, por lo que finalmente mueren. (Tortora y Reynolds, 2002, pp. 145–146)
- d) **Capa lúcida:** se encuentra únicamente en las plantas de los pies y en las palmas de las manos, está constituida por dos a tres capas de células aplanadas, anucleadas y muertas,

además presenta una proteína denominada eleidina, la cual provee elasticidad a la epidermis. (Badía y García, 2013, p. 8)

- e) **Capa córnea:** compuesto entre 25 a 30 filas de corneocitos, que son células muertas, aplanadas, anucleadas y completamente queratinizadas. En esta capa se crea una red espesa, cuya función es proteger a la piel en contra de agentes externos como: microorganismos, compuestos químicos, luz UV, etc. (Badía y García, 2013, p. 8)

### 1.1.2. *Dermis*

La dermis conocida también como corion, se localiza debajo de la epidermis y presenta una capa más gruesa que la epidermis entre 15 a 40 veces. Posee nervios, vasos sanguíneos y anexos de la piel. Su grosor es entre 1 a 2 mm, dependiendo de la región anatómica, es decir, el grosor de las palmas de las manos y de las plantas de los pies es de hasta 3 mm, en cambio el grosor de los párpados llega alcanzar hasta los 0,6 mm. (Peña, 2007, p. 17)

La función principal de la dermis es dar protección en contra de traumatismos, además presenta una función secretora, el cual realiza el control de la permeabilidad de la piel. (Badía y García, 2013, pp. 10–11)

#### 1.1.2.1. *Estructura de la dermis*

La dermis se divide en dos capas:

- **Dermis papilar o superficial:** es un tejido conectivo delgado y externo. Está compuesta por vasos sanguíneos, terminaciones nerviosas, fibras de colágeno, fibras elásticas y células como: fibroblastos, mastocitos y dendrocitos. En su superficie está constituida por papilas dérmicas, que son proyecciones cónicas y que se relaciona con la epidermis a través de puentes, aumentando de esta manera el área de contacto entre las capas de la piel, es decir, existe una excelente adhesión entre la epidermis y la dermis. (Valdés et al., 2012, p. 163)

Algunas papilas dérmicas están formadas por bucles capilares, que contribuye a la nutrición de la epidermis, otros contienen receptores táctiles, los cuales son terminaciones nerviosas sensibles al tacto llamadas corpúsculos de Meissner. También poseen dendritas, que son terminaciones nerviosas libres, las mismas que trasladan los impulsos y los traduce en diferentes sensaciones como: dolor, frío, hormigueo, calor y picazón. (Tortora y Reynolds, 2002, p. 147) (Marieb, 2008, p. 117)

- **Dermis reticular o profunda:** es un tejido conjuntivo compacto e irregular, se encuentra en contacto con la hipodermis y está compuesto por fibras de colágeno y fibras elásticas, estas fibras proporcionan a la piel extensibilidad, resistencia y elasticidad. Entre las fibras se encuentran vasos sanguíneos, adipocitos, anexos cutáneos y fibras nerviosas. (Tortora y Reynolds, 2002, p. 147) (Pró, 2012, p. 18)

#### 1.1.2.2. *Componentes de la dermis*

La dermis está compuesta por células, tejido conjuntivo y sustancia fundamental. (Navarrete, 2003, p. 131)

a) **Células:** los elementos celulares de la dermis son:

- **Fibroblastos:** se encuentran en gran cantidad en el tejido conjuntivo y son responsables de la síntesis de las fibras colágenas y elásticas y en la elaboración y conservación de la sustancia fundamental. Los fibroblastos presentan una forma estrellada, un núcleo ovalado y prolongaciones delgadas. (Acosta, 2006, pp. 27–28)
- **Mastocitos o células cebadas:** Son células pertenecientes al tejido conectivo, se encuentran en la médula ósea y se ubican prioritariamente en la dermis y en las mucosas del aparato urinario, respiratorio y digestivo. (Zavala et al., 2010) Los mastocitos son de gran importancia en la homeostasis de la persona, angiogénesis, cicatrización de las heridas y en la protección frente a agentes extraños, el cual contribuye tanto en la inmunidad innata como en la inmunidad adquirida. (Pazmiño y Navarrete, 2014, p. 272)
- **Histiocitos:** son células del sistema inmunitario y provienen de los monocitos circulantes. Son alargados, móviles y presentan forma de estrella. Los histiocitos presentes en la piel se clasifican en tres tipos que son: Células de Langerhans (células potentes presentadoras de antígeno), macrófagos (responsables de procesar el antígeno) y dendrocitos (encargados de presentar a los linfocitos T). Además, los macrófagos y los dendrocitos tienen como función la fagocitosis (englobar y digerir agentes extraños). (Pastor y Jiménez, 2006, p. 421) (Svarch et al., 2001, p. 151)

b) **Tejido conjuntivo:** está constituido por tres tipos de fibras:

- **Fibras colágenas:** componen el 70% de las fibras de la dermis y se organizan creando haces paralelos entrecruzados. Su grosor depende de la zona en donde se encuentra, es



decir, en la dermis papilar presentan fibras delgadas, mientras, que en la dermis reticular las fibras son mucho más gruesas. Las fibras de colágeno presentan una proteína denominada colágeno, cuya función es dar elasticidad y resistencia a la piel. (Badía y García, 2013, p. 12) (Navarrete, 2003, p. 131)

- **Fibras elásticas:** conforman el 14% de las fibras de la dermis y son el principal constituyente del tejido conjuntivo, confiriendo elasticidad y resistencia a la piel. (Panizzardi et al., 2015, p. 127) Están compuestas por microfibrillas y una proteína fibrilar llamada elastina. Las fibras elásticas crean unas redes gruesas en medio de las haces de las fibras de colágeno, colocándose prioritariamente alrededor de las glándulas cutáneas y los folículos pilosos. (Peña, 2007, p. 18)
  - **Fibras reticulares:** forman el 0.4% de las fibras de la dermis y están organizadas en forma de red, interviniendo como soporte de las demás estructuras. Está compuesta por una proteína denominada reticulina, encargada de la estructura en forma de red. (Badía y García, 2013, p. 12)
- c) **Sustancia fundamental:** es una sustancia amorfa, espesa y se encuentran entre las fibras, vasos sanguíneos, nervios y células. Está compuesta por agua, proteínas, electrolitos y mucopolisacáridos como: condroitín-sulfato, dermatán-sulfato y ácido hialurónico. Por medio de la sustancia fundamental se transmite el oxígeno y los componentes nutritivos destinados a las células epidérmicas. (Peña, 2007, p. 18)

### 1.1.3. *Hipodermis*

Tejido celular subcutáneo, hipodermis o panículo adiposo, es la capa más profunda de la piel y está compuesta por células grasas llamadas adipocitos, los mismos que se ubican en forma de lóbulos y se encuentran separados por tejido conjuntivo fibroso. (Navarrete, 2003, p. 131) Las funciones de la hipodermis son: en la regulación de la temperatura, reserva de la energía y en la protección frente a daños mecánicos. (Valdés et al., 2012, p. 163)

## 1.2. **Heridas**

La herida es la ausencia de la integridad de la piel, debido al accionar de agentes externos tal como cuchillos, vidrios, láminas metálicas, etc o también por agentes internos como por ejemplo al fracturarse un hueso; en este caso se produce la pérdida del medio estéril interno,

dando como resultado una infección y riesgo de originarse lesiones en los tejidos adyacentes como: músculos, vasos sanguíneos y nervios. (Esteva, 2006, p. 54)

### **1.2.1. Clasificación de las heridas**

Las heridas se pueden clasificar en:

#### **a) Según la ausencia o presencia de rompimiento del tejido superficial**

- **Heridas abiertas:** existe ruptura de los tejidos blandos y son más sensibles a contaminarse. (Michua y Ramírez, 2016, p. 23) Son producidas por elementos cortopunzantes, por ejemplo: con arma blanca, herida quirúrgica, venopunción, etc. (Asto, 2015, p. 11)
- **Heridas cerradas:** producen hemorragia, la cual se almacena en los órganos, debajo de la piel o en las cavidades y no presenta separación de los tejidos blandos. Generalmente son causadas por golpes y deben de atenderse inmediatamente debido a que pueden comprometer la circulación sanguínea o la función de un órgano. (Michua y Ramírez, 2016, p. 24)

#### **b) Según su grado de complejidad**

- **Heridas superficiales o simples:** daña solo a la piel; además se pueden cicatrizar sin ninguna dificultad y no tiene ningún otro tipo de complicación durante el proceso. (Rojas, 2017, p. 11) Tal es el caso de las quemaduras de primer grado y las abrasiones o raspones comúnmente conocidas. (Asto, 2015, p. 11)
- **Heridas complejas o profundas:** en este tipo de heridas afectan a varias partes del cuerpo como por ejemplo: músculos, huesos, vasos sanguíneos, nervios, etc; estas heridas son bastantes profundas y se encuentran elementos contaminantes como: vidrios, polvo o arena, etc. Son de este grupo aquellas heridas que se dificultan curarles y necesitan técnicas especiales para su cicatrización. (Rojas, 2017, p. 11)

#### **c) Según el tiempo de evolución**

- **Heridas agudas**

Las heridas agudas son aquellas que tiene un proceso ordenado durante la cicatrización, en un tiempo de 7 a 14 días y el mismo que se cicatriza por primera intención, con el fin de reparar la

totalidad de la estructura anatómica y funcional de la piel anteriormente lastimada. Este tipo de heridas son provocadas por procedimientos quirúrgicos, traumatismos, quemaduras, etc. (Gutiérrez et al., 2014, p. 11) (Jiménez, 2008, p. 149)

Existen diferentes tipos de heridas agudas:

- **Heridas incisas o cortantes:** son originadas por objetos punzantes como: vidrios, bisturí, cuchillos, trozos de latas, etc, los mismos que pueden cortar los músculos, nervios y tendones. Estas heridas tienen bordes limpios y rectos, presentan una hemorragia que puede ser: mínima, normal o excesiva; todo esto depende la localización, número y dimensión de los vasos sanguíneos afectados. (Esteva, 2006, p. 55)
- **Heridas contusas:** son causadas por diferentes causas como son: traumatismos, objetos contundentes, etc. Presentan dolor, infección y hematomas. Estas heridas tienen irregularidades en sus bordes y sus tejidos no son irrigados de forma regular. Las heridas contusas necesitan primeramente un tratamiento antes del cierre por segunda intención. (Arribas et al., 2002, p. 249) (Esteva, 2006, p. 55)
- **Heridas punzantes:** a diferencia de las anteriores heridas, las punzantes son producidas por objetos filudos como: agujas, clavos, anzuelos, mordeduras de serpientes, etc. La herida producida es muy dolorosa, pero en cambio existe una hemorragia mínima y su peligro de infección es bajo, pero en cambio se considera muy peligrosa, ya que la profundidad de la herida puede perforar órganos, lo que origina hemorragias internas. (Arribas et al., 2002, p. 249) (Esteva, 2006, p. 55)
- **Raspaduras, excoriaciones o abrasiones:** son provocadas por un contacto intenso de la piel con otra área más áspera, se produce una pérdida de la epidermis, lo que causa un ardor que desaparece pronto y una débil hemorragia. En este tipo de heridas hay que tener precaución ya que son las que con mayor incidencia se infectan. (Esteva, 2006, p. 56)
- **Heridas avulsivas:** una característica de estas heridas es que se produce una separación del tejido del cuerpo del enfermo, además tenemos un abundante sangrado, un ejemplo es común es la típica mordedura de los perros. (Esteva, 2006, p. 56)
- **Magulladuras:** son causadas por golpes, ocasionando un hematoma. Pertenecen a las heridas cerradas. (Esteva, 2006, p. 56)

- **Aplastamiento:** este tipo de lesión se da cuando caen objetos pesados sobre el cuerpo, lo que provoca fracturas en los huesos, heridas en los órganos y por lo que general producen hemorragias externas en ocasiones, pero la hemorragia interna es más abundante. (Esteva, 2006, p. 56)
- **Quemaduras:** son producidas por contacto directo de cualquier parte del cuerpo con objetos cuya temperatura es superior a la que se puede soportar, esto produce pérdida celular, inflamaciones y eliminación de líquidos debido a la ruptura de los vasos sanguíneos. (Esteva, 2006, p. 56)
- **Quirúrgica o postoperatoria:** son causadas durante las operaciones quirúrgicas y depende del grado de contaminación que exista y son: (Valladares et al., 2015, pp. 1–2)

**Herida limpia:** es cuando se emplean técnicas correctas de asepsia, en la cual la herida se cicatriza en circunstancias normales y no existe la presencia de necrosis. Su peligro de contaminación es menor al 5%. (Valladares et al., 2015, p. 2) (Concha et al., 2016, p. 1039)

**Herida Limpia-Contaminada (LC):** en este tipo de heridas el peligro de infección está cerca al 10% y existen pequeñas rupturas en lo referente a asepsia o cortes que implican al tracto digestivo, respiratorio, urinario o genital. (Concha et al., 2016, p. 1039)

**Herida Contaminada:** el riesgo de infección es del 20 al 30%, aquí existe rupturas mayores en lo referente a técnicas de asepsia o que se ubican en un sitio que se encuentran con inflamación. Por lo general el tiempo de infección es de unas seis horas, si la herida no se lo trata a tiempo. (Concha et al., 2016, p. 1039)

**Herida Sucia:** tiene un alto riesgo de infección que va del 30 al 40%, se puede notar que la herida contiene pus en forma de un tumor, además implica un orificio de los órganos o también entra en contacto con materiales de desecho como: deposiciones. (Concha et al., 2016, p. 1039)

- **Heridas Crónicas**

La característica de esta herida es que no tiene un proceso ordenado de regeneración, es más se detiene en alguna fase del proceso de cicatrización, por lo que no permite la restauración anatómica y funcional de la herida. (Jiménez, 2008, p. 149)

Para considerar que una herida sea crónica debemos tener en cuenta de que la misma no se ha cicatrizado en un tiempo de seis semanas, lo que requiere de períodos más largos para que se cicatrice por completo; entonces, la cicatrización sería por segunda intención. Estas heridas también pueden ser por efecto del desarrollo de una enfermedad previa o también por un pésimo desarrollo de una herida aguda. Las heridas crónicas más comunes son: (Gutiérrez et al., 2014, pp. 11–14)

- **Úlceras por presión:** son producidas por el peso de una persona que está en una sola posición sin moverse, se origina en la piel, debido a la disminución de la circulación sanguínea en esa zona, lo que conduce a que el tejido inmiscuido se muera. Se caracteriza por el apareamiento de una zona rojiza en la piel, a continuación aparece una ampolla, después hay una llaga y finalmente se produce una abertura. (Esteva, 2006, p. 58)

Existen lugares específicos donde aparecen este tipo de úlceras como son: codos, hombros, espalda, cadera, etc. Un caso típico es el de las personas postradas, en aquellas personas que han sido intervenidas quirúrgicamente, etc. (Esteva, 2006, p. 58)

- **Úlceras vasculares:** Se producen por deficiencia en flujo sanguíneo de las piernas de las personas, puede llegar a ser crónica y su tratamiento ya es más complicado. La afección puede ser en partes superficiales de la piel o puede ser en partes profundas como músculos y huesos. (Rodríguez et al., 2017, p. 83)
- **Úlceras neuropáticas (pie diabético):** este tipo de úlceras afecta al pie de las personas y empieza con una ulceración, infección y gangrena. (Rodríguez et al., 2017, p. 83) Las características son: pie caliente, aumento de volumen, con variaciones de diferente grado, estas variaciones pueden ser a la presión, calor, sensibilidad o al dolor. (Esteva, 2006, p. 58)
- **Úlceras neoplásicas:** son heridas cutáneas y van aumentando de tamaño progresivamente ya que el desarrollo del tumor penetra las capas de la piel, por lo que se produce una úlcera abierta, la misma que no cicatriza y mejor destruye el tejido de su alrededor. Se presentan de distintas formas como una coliflor o como un cráter de poca profundidad, que puede llegar a formarse una fístula. (Vargas et al., 2015, pp. 96–97)

### 1.3. Cicatrización

Es un proceso de enorme complejidad, cuya finalidad es regenerar la totalidad de la piel y evitar cualquier alteración en su función, lo que resulta de importancia para sostener la homeostasis

del individuo. (Bielsa, 2006, p. 207) Este proceso está intervenido por proteínas solubles y células responsables del aumento celular para la cicatrización del tejido lesionado. (Valencia, 2010, p. 88)

### 1.3.1. *Tipos de cicatrización*

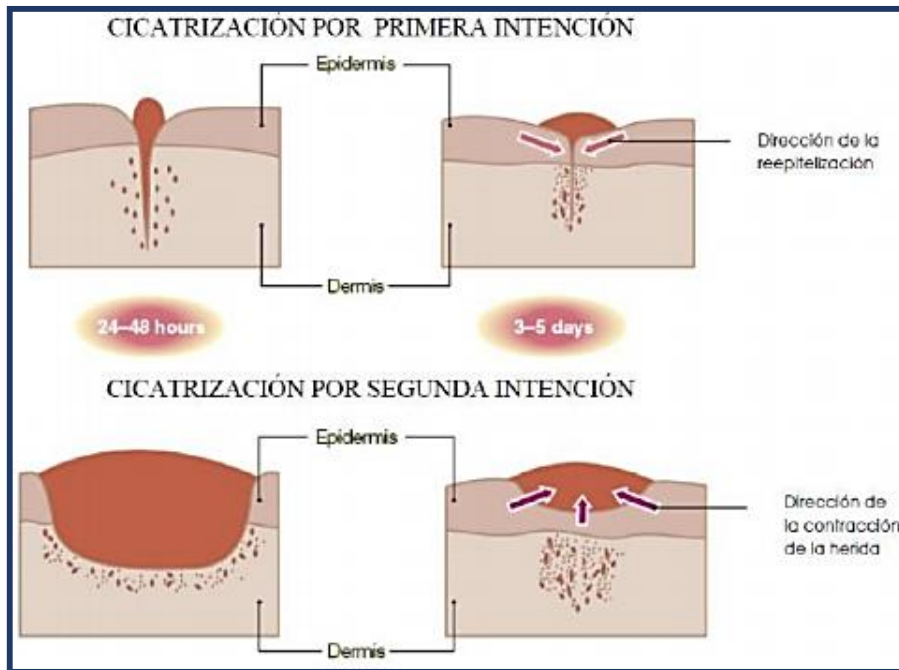
- **Por primera intención:** se trata de una lesión en el tejido, se produce una pequeña muerte celular, al igual una mínima ruptura de la estructura en la membrana basal, lugar donde la cicatrización es más rápida y efectiva, el tejido se repara en un corto período. (Vargas, 2014, p. 2259)

La cicatrización se realiza por unión primaria y deben de tener las siguientes características: pequeño edema, ausencia de secreción, en un tiempo rápido, sin que los bordes de la herida se separen y una formación de una pequeña cicatriz. (Salem et al., 2000, p. 91)

- **Por segunda intención:** este tipo de cicatrización tenemos en heridas que tienen mayor daño del tejido y su estructura, por lo que la inflamación es más grande y la reducción de los miofibroblastos, los cuales tratan de unir los bordes de la lesión, originando un borde con apariencia redondeada. (Vargas, 2014, p. 2259)

Podemos decir que el desarrollo es lento y da como resultado una cicatriz más grande, además existe un mayor peligro de infección en la herida. (Felzani, 2005)

- **Por tercera intención o cierre primario diferido:** para heridas y tejidos bastante contaminados, este método es más seguro para la restauración de las heridas. El profesional debe tener mucho cuidado en la limpieza y el cierre de la herida ocurre a partir del tercer al séptimo día, lo que ocurre cuando se ha rebasado el peligro de una infección. (Salem et al., 2000, p. 91)
- **Por Cuarta Intención:** es cuando la cura de la herida se la realiza de manera rápida por intermedio de injertos cutáneos. (Asto, 2015, p. 13)



**Figura 2-1:** Tipos de cicatrización

Fuente: (Asto, 2015, p. 13)

### 1.3.2. *Proceso de cicatrización*

Cuando ocurre una herida se produce un conjunto de procesos biológicos, a los cuales acuden el organismo para recuperarse, lo que conoce como proceso de cicatrización. Se realiza en tres fases a la vez que son independientes y relacionadas entre sí, estas son: (Salem et al., 2000, p. 90)

#### a) **Fase inflamatoria**

Es la primera fase de la cicatrización, ocurre en los dos siguientes días que se ha producido la herida. El aspecto principal de esta fase es suprimir residuos celulares y además preparar a la lesión para la regeneración del tejido. Se manifiesta clínicamente por rubor, calor, hinchazón y dolor. (Azcoitia, 2016, p. 6)

Además, está caracterizada por las respuestas vasculares y son la coagulación y la hemostasia, a través de la creación de un coágulo sanguíneo y fibrina que cubre los tejidos subyacentes evitando la oxigenación. (Téllez y Franco, 2017, p. 1)

Se subdivide en dos etapas: la hemostasia-coagulación y la inflamación. En la primera las plaquetas segregan el factor de crecimiento proveniente de las mismas, que es un quimiotáctico estimulador del crecimiento celular de la epidermis. (Téllez y Franco, 2017, p. 1)

En la segunda los neutrófilos se trasladan al lugar de la herida inmediatamente de haber originado la lesión, los mismos que eliminan los desechos y la contaminación a causa de los microorganismos a través de la fagocitosis y por la acción de los radicales libres de oxígeno (ROS). Además los neutrófilos segregan citocinas proinflamatorias que activan a los queratinocitos locales y a los fibroblastos. (Téllez y Franco, 2017, p. 1)

Luego los neutrófilos son desplazados por los macrófagos que originan citocinas y factores óptimos para la cicatrización, entre los que podemos mencionar son la interleucina (IL)-1 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), los mismos que inducen a la activación del factor de señalización kappa B (NF-kB), éste tiene un papel principal en la multiplicación celular y el posterior apareamiento de la cicatriz. (Téllez y Franco, 2017, p. 1)

También el factor de señalización kappa B (NF-kB), provoca la fabricación de factores de crecimiento que ayudan a la elaboración de colágeno derivados de los fibroblastos. Mientras que el factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ), ayuda de forma fundamental en el proceso de la regeneración de la piel y actúa como quimioatrayente para los monocitos, fibroblastos, neutrófilos y linfocitos. (Téllez y Franco, 2017, p. 2)

#### **b) Fase proliferativa**

La característica de esta fase es la de proliferación del tejido de granulación constituida fundamentalmente por los fibroblastos y el proceso de angiogénesis. (Dwivedi et al., 2017, p. 80)  
Este ocurre entre el tercer y décimo cuarto día. (Salem et al., 2000, p. 90)

En primer lugar tenemos la formación de un tejido de granulación, el mismo que es reemplazado luego por un tejido epitelizado. El colágeno y la matriz extracelular son sintetizados por los fibroblastos, en donde la matriz extracelular está formada por elastina, proteoglicanos, procolágeno y ácido hialurónico. Las fibras de colágeno al polimerizarse crean fibras más robustas, embebidas en la matriz extracelular. (Téllez y Franco, 2017, p. 2)

En la epitelización se separan las costras y en su lugar comienza la reconstrucción de la epidermis encima del tejido granulado. Entonces, los queratinocitos de la cercanía de la herida y del bulbo piloso se trasladan, dejando una capa estratificada de queratinocitos que se multiplican, continuando hasta que los extremos opuestos de la lesión entran nuevamente en contacto. (Téllez y Franco, 2017, p. 2)



En la angiogénesis, las células endoteliales se trasladan a la parte lesionada, formando vasos sanguíneos y capilares nuevos, los mismos que llevan nutrientes y oxígeno al sector de la herida. (Süntar et al., 2012, p. 2)

### c) Fase de remodelación

Esta fase se inicia desde el día 15 de producida la herida hasta que se cicatrice totalmente que puede ser de seis a doce meses. (Salem et al., 2000, p. 90) Aquí tenemos un depósito de matriz constante, el mismo que permite la restauración integral y estructural del tejido, al formarse el coágulo de fibrina, la matriz desaparece y el tejido de granulación abundante en colágeno inmaduro tipo III es reemplazado por colágeno maduro tipo I, el mismo que es colágeno fundamental extracelular, siendo la primordial proteína estructural del tejido de la cicatriz. (Téllez y Franco, 2017, p. 2)

Por último disminuye la cicatriz y baja el enrojecimiento, espesor y la inflamación. La reducción de la cicatriz se debe a que el TGF-B1 provoca el cambio de los fibroblastos en miofibroblastos que se reducen debido a la presencia de filamentos de actina. Al disminuirse la síntesis de colágeno tenemos el aumento de la resistencia y la reducción del espesor de la cicatriz. (Téllez y Franco, 2017, p. 2)

### 1.3.3. Factores que influyen en la cicatrización

Existen varios factores que afectan a su cicatrización y que son:

a) **Factores generales:** son los que impide el proceso normal de la cicatrización y estos son: (Felzani, 2005)

- **Edad:** es un factor importante para la cicatrización, ya que a mayor edad el proceso de cicatrización es más lento; es decir, que las personas de mayor edad presentan una menor capacidad de multiplicación celular, neovascularización y colagenogénesis, y la reparación del tejido se vería afectada. (Moreno et al., 2005, p. 135)
- **Nutrición:** es de vital importancia en el proceso de la cicatrización; ya que si el individuo está desnutrido la curación de la herida conlleva más tiempo, debido a que la inflamación se prolonga, impide la función de los fibroblastos y disminuye la angiogénesis y la degradación del colágeno. Hay nutrientes esenciales para la cicatrización de las lesiones

entre estas tenemos la vitamina A, carbohidratos y los ácidos grasos omega-3. (Singh et al., 2017, p. 476)

- **Estrés:** puede retardar el proceso de cicatrización, puede ser debido a una menor expresión de las citocinas proinflamatorias y de algunos factores de crecimiento. (Senet, 2008, p. 8)
- **Hábito de fumar:** influyen en la cicatrización debido a las secuelas sobre la quimiotaxis, función migratoria y los mecanismos bactericidas oxidativos en la fase inflamatoria. Además disminuye el desplazamiento y la multiplicación de los fibroblastos; el fumar perjudica la función inmune, reduce la síntesis y la degradación del colágeno. (Singh et al., 2017, p. 476)
- **Enfermedades:** existen afecciones, las mismas que influyen en el proceso de cicatrización y son:

**Diabetes:** esta enfermedad afecta a la cicatrización, disminuyendo la capacidad de curación. Esto ha sido estudiado en modelos experimentales utilizando ratas y en donde se ha confirmado la disminución de la síntesis de colágeno, en la respuesta inflamatoria, angiogénesis y la epitelización. (Senet, 2008, p. 7)

**Alteraciones cutáneas:** las cicatrices anchas y de diferente forma, se presenta en pieles que tienen las glándulas sebáceas hiperactivas, psoriasis, eccemas y dermatitis seborreica. (Muñoz, 2011, p. 7)

**Hipertiroidismo:** en esta enfermedad se produce un incremento en la disminución del colágeno y la colagenogénesis. (Fernández et al., 2008, p. 14)

**Hipotiroidismo:** se reduce la degradación del tejido y la síntesis del colágeno. (Fernández et al., 2008, p. 15)

**Arteriosclerosis:** presencia de colesterol y lípidos en las paredes de los vasos sanguíneos, lo que provoca una reducción del flujo sanguíneo. (Fernández et al., 2008, p. 14)

- **Tratamientos farmacológicos:** son los siguientes:

**Compuestos antiinflamatorios:** disminuye la epitelización y la reducción de la lesión, también influye en la multiplicación de los fibroblastos y la producción de la síntesis de colágeno. (San Martín, 2014, p. 6)

**Vitamina C:** es un cofactor imprescindible de la prolina y lisina hidroxilasa, las mismas que intervienen en la producción de síntesis del colágeno. La deficiencia de esta vitamina reduce el almacenamiento del colágeno en el proceso de cicatrización y además modifica la angiogénesis con presencia de hemorragias y reducción de la resistencia de las cicatrices. (Senet, 2008, p. 7)

**Adrenalina:** modifica la actividad de las defensas y ayuda a la infección. (Muñoz, 2011, p. 7)

**Povidona yodada y agua oxigenada:** demora la cicatrización, eliminando células durante la etapa de proliferación de la herida. (Fernández et al., 2008, p. 15)

**Algunas hormonas:** la progesterona ayuda a la angiogénesis pero deprime la fibroplasia; mientras que los estrógenos impiden ambas fases. (Fernández et al., 2008, p. 15)

- b) **Factores locales:** son los que interfiere de forma directa en las características de las lesiones durante el proceso de cicatrización y son las siguientes: (González et al., 2013, pp. 133–134)

- **Contaminación crítica:** la etapa de inflamación perdura en el tiempo, ya que al incrementar las bacterias en la lesión también se incrementa los glóbulos blancos, determinando un aumento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos, lo que permite el ingreso de los leucocitos, originando un edema en la herida y una reducción de los fibroblastos. (Fernández et al., 2008, p. 15)

- **Cuerpos extraños:** son entidades que el cuerpo humano ubica como agentes extraños o también el sistema inmune del huésped no lo ve como propio, así por ejemplo tenemos a las bacterias, el hilo de sutura, etc. (Felzani, 2005)

Los cuerpos extraños pueden ocasionar tres incidentes: el primero ayuda a la multiplicación de las bacterias, originando infección y perjuicios en el huésped, segundo los compuestos no bacterianos pueden obstaculizar la respuesta de protección que el huésped emite y dar

paso a la infección, finalmente proceden como antígenos dando respuestas inmunológicas que ocasionan una larga inflamación. (Felzani, 2005)

- **Tejido necrótico:** puede ocasionar dos tipos de inconvenientes. Primero hace de barrera lo cual impide la acción restauradora de las células, la inflamación se incrementa ya que los leucocitos tienen suprimir los residuos del tejido a través de la fagocitosis y la lisis. Segundo tenemos que el tejido necrótico conforma un depósito para la multiplicación de bacterias. (Felzani, 2005)
- **Flujo sanguíneo:** cualquier modificación en el flujo sanguíneo de la herida afectada provoca hipoxemia y perjudica en el proceso de la cicatrización y en casos más graves provoca necrosis del tejido. La acción de los neutrófilos se modifica aumentando el riesgo de infecciones. (Fernández et al., 2008, p. 14)
- **Edema:** disminuye el flujo sanguíneo a partir del incremento de la presión intersticial en los vasos sanguíneos, además frena la cicatrización al prohibir que los componentes indispensables para este proceso de formación, ya que baja el oxígeno en los tejidos y aumenta el contenido de dióxido de carbono, dando como resultado que el medio sea más ácido y modificando el proceso de cicatrización. (González et al., 2013, pp. 133–134)
- **Isquemia:** ayuda a la necrosis, además origina una disminución en el desplazamiento de los anticuerpos, leucocitos, etc, lo que aumenta las posibilidades de una infección, al mismo tiempo baja la contribución de oxígeno y nutrientes indispensables para la restauración de la herida. (Felzani, 2005)
- **Hematomas:** es un elemento indispensable, ya que aparta los tejidos profundos, controlando el flujo sanguíneo y la tensión aumenta la piel para que pueda alojar al hematoma. (González et al., 2013, pp. 134–135)
- **Infecciones:** cuando la piel es herida, los microorganismos que se encuentran en la superficie de la piel tienen contacto directo con los tejidos subyacentes. (González et al., 2013, pp. 133–134) La cicatrización se demora por el uso de oxígeno de las bacterias y a su vez se aumenta ciertas sustancias que eliminan el colágeno. Existen ciertas bacterias que se nutren del nuevo tejido formado por lo que se dificulta el cierre de la herida. (Muñoz, 2011, p. 7)

- **Exceso de exudado:** demora la multiplicación de los fibroblastos, células endoteliales y queratinocitos, las mismas que modifican la sustancia elemental de la matriz extracelular. (Fernández et al., 2008, p. 15)
- **Temperatura:** la herida debe tener una temperatura de 37°C, pero si es inferior se tiene una vasoconstricción, es decir que no existe suficientes glóbulos blancos en la herida, además tenemos una modificación en la transferencia de oxígeno y nutrientes. (Fernández et al., 2008, p. 15)
- **Deshidratación de la herida:** al estar la herida descubierta se produce la creación de una costra o escara, la misma que actúa de barrera física contra los queratinocitos, lo que impide su desplazamiento a la parte ulceral. También reduce la multiplicación y división celular. (Fernández et al., 2008, p. 15)

A más de los factores mencionados, la ubicación y tamaño de la herida son muy importantes en la cicatrización, ya que una superficie con mayor contribución vascular la cicatrización será más segura, al igual que una herida grande necesita más tiempo para cicatrizar que una de herida pequeña. (Felzani, 2005)

#### 1.3.4. *Factores relacionados con la mejora de la cicatrización de las heridas*

##### a) **Características antimicrobianas**

En las heridas abiertas existe mayor posibilidad de infección, esencialmente por las bacterias, además son una puerta de acceso para las infecciones sistémicas. Si tenemos heridas contaminadas estas cicatrizan en mayor tiempo y además provocan la creación de exudados desagradables y se originarán toxinas a causa de la muerte de las células en regeneración. (Houghton et al., 2005, p. 104)

Un medicamento tradicional puede impedir que esto suceda y además se puede constituir en la base de un tratamiento contra las heridas y este remedio debe contener compuestos antibacterianos y antifúngicos. (Houghton et al., 2005, p. 104)

##### b) **Propiedades antioxidantes**

En la etapa inflamatoria, el objetivo principal es la eliminación de restos, tejido dañado y bacterias por neutrófilos y macrófagos que desempeñan un papel en la defensa antimicrobiana y

limpieza del tejido desvitalizado mediante la producción de enzimas proteolíticas y especies reactivas de oxígeno (ROS). (Süntar et al., 2012, p. 2)

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) juegan un papel vital en la curación y sirven como mensajeros celulares, estas se producen en grandes cantidades en el sitio de la herida como un mecanismo de defensa contra las bacterias invasoras. Al mismo tiempo, el proceso de curación de heridas puede verse obstaculizado por la presencia de radicales libres, que pueden dañar las células circundantes de la herida, o por infección microbiana. (Dwivedi et al., 2017, p. 80)

Sin embargo, la presencia de un mayor número de neutrófilos y ROS abruma las sustancias antiproteasa que normalmente protegen las células de los tejidos y la matriz extracelular. En altas concentraciones, las ROS pueden inducir daño tisular severo e incluso conducir a la transformación neoplásica disminuyendo el proceso de curación por daños en las membranas celulares, ADN, proteínas y lípidos. (Süntar et al., 2012, p. 2)

Los fibroblastos pueden ser eliminados y los lípidos de la piel serán menos flexibles por exceso de ROS. Debido a esto, el papel general de los antioxidantes es importante en el tratamiento y manejo exitoso de las heridas. Los antioxidantes reducen estos efectos adversos de las heridas al eliminar los productos de la inflamación. Combinan el exceso de proteasas y ROS a menudo formadas por la acumulación de neutrófilos en el sitio lesionado y protegen a los inhibidores de la proteasa del daño oxidativo. (Süntar et al., 2012, p. 2)

El mecanismo más probable de protección antioxidante es la interacción directa de los extractos (o compuestos) y el peróxido de hidrógeno en lugar de alterar las membranas celulares y limitar el daño. Se ha demostrado que los compuestos con gran capacidad de eliminación de radicales facilitan la cicatrización de heridas. (Süntar et al., 2012, p. 2)

#### **1.4. Metabolitos secundarios que participan en la cicatrización**

##### **a) Flavonoides**

Son compuestos fenólicos que constituyen un extenso grupo de metabolitos secundarios vegetales, los mismos que se producen en toda la planta, además encontramos en alimentos y bebidas. (Karabin et al., 2015, p. 5)

Los flavonoides se han descrito como agentes promotores de la salud con efectos biológicos probados in vitro e in vivo como: la eliminación de radicales libres, modulación de la actividad

enzimática y la inhibición de la proliferación celular. Así como sus usos potenciales empleados como: antibióticos, anticancerígenos, antiinflamatorios o agentes estrogénicos. (Karabin et al., 2015, p. 5)

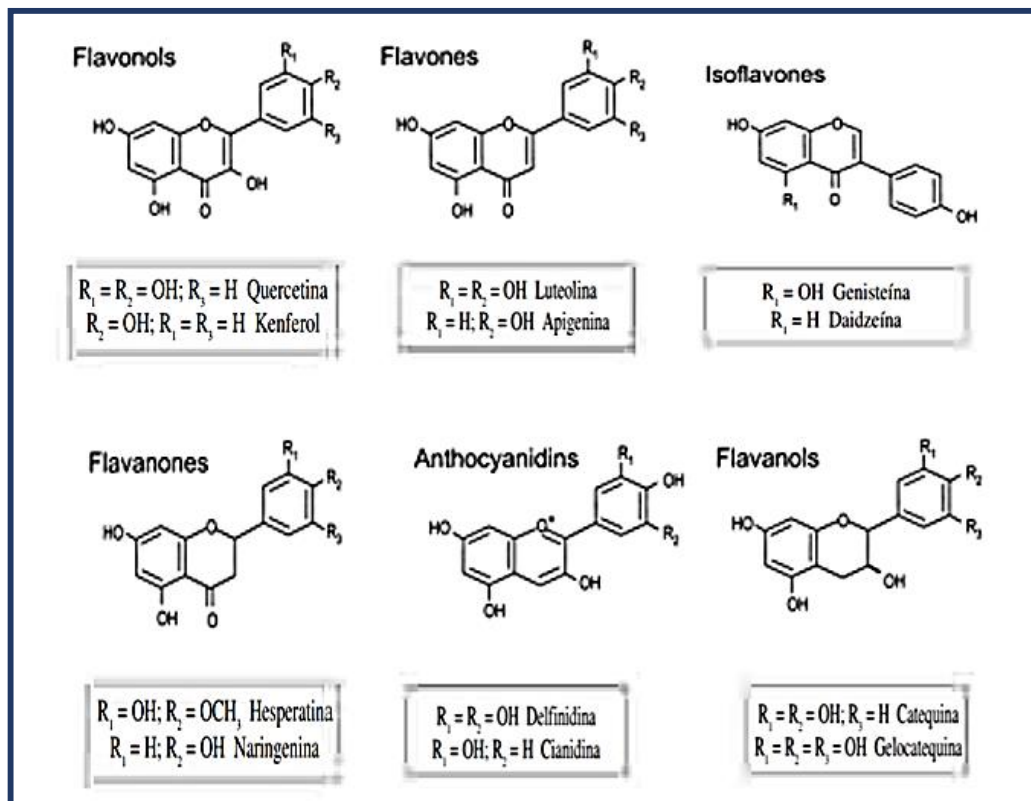
Son elementos de bajo peso molecular, que tienen un esqueleto común difenilpirano ( $C_6-C_3-C_6$ ), que está constituido por dos anillos fenilo (A y B) unidos a través de un anillo C de pirano heterocíclico. Se hallan en gran cantidad como glucósidos, pero también se pueden encontrar en forma libre denominados agliconas flavonoides. También podemos encontrar como sulfatos, dímeros o polímeros. (Quiñones et al., 2012, p. 78)

Se los clasifica en base al estado de oxidación del anillo heterocíclico (Anillo C) y del lugar del anillo B. Cada familia tiene gran diversidad de compuestos y se diferencian por el número y la ubicación de los grupos hidroxilos y por los diferentes grupos funcionales como: metilos, azúcares, ácidos orgánicos, etc. Se subdividen en: flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianidinas y flavanoles. (Quiñones et al., 2012, pp. 78–79)

### **Propiedades**

Los flavonoides junto con la vitamina C incrementa la síntesis de fibronectina extracelular y colágeno, ya que producen el incremento de fibroblastos normales de la piel. Además tienen propiedades antiinflamatorias y analgésicas debido a los efectos de los antioxidantes y a la capacidad de accionar contra la histamina y otros intermediarios de la inflamación como son: leucotrienos y prostaglandinas. (Asto, 2015, p. 20)

Las antocianidinas ayudan en la angiogénesis en las lesiones y en la cicatrización al aligerar la reducción de la herida y su ulterior cierre. (Asto, 2015, p. 20)



**Figura 3-1:** Clasificación de los flavonoides  
Fuente: (Quiñones et al., 2012, p. 79)

## b) Taninos

Son compuestos fenólicos hidrosolubles. Contienen un elevado número de grupos hidroxilos y grupos funcionales, se pueden unir a proteínas y otras macromoléculas. (Porrás y López, 2009, p. 124) Se clasifican en dos grupos: taninos hidrolizables siendo el principal componente el ácido gálico y los taninos condensables, los principales compuestos de este grupo son los monómeros de flavonoides. (Guamán, 2015, p. 16)

### Propiedades

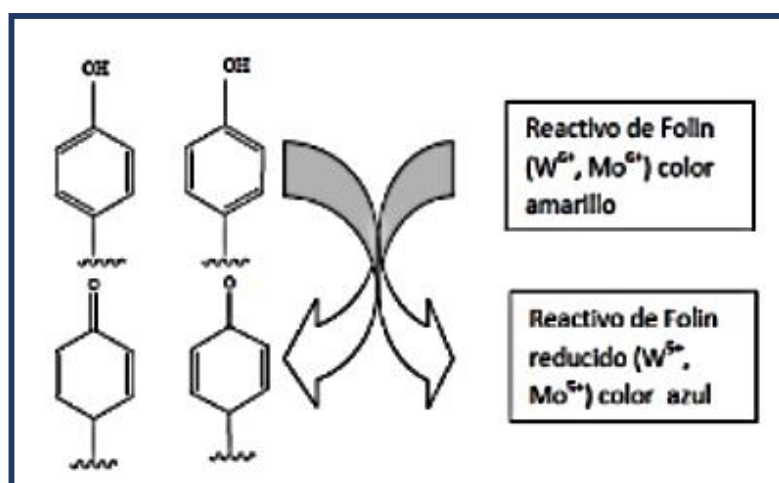
La función de los taninos es agilizar la cicatrización de las heridas y la hemostática que tiene por finalidad parar el sangrado ya que se unen los taninos con las proteínas, para crear un ambiente seco con baja cantidad de agua de esta manera se evita la multiplicación de las bacterias, por lo que se contribuye a la coagulación y la posterior sanación de la herida. También es útil para el cuidado de la piel, ya que actúan en la curación de granos, espinillas y eliminación de grasa. (Cabezas, 2014, p. 29)



## 1.5. Métodos empleados en la determinación de fenoles y antioxidantes

### 1.5.1. Cuantificación de fenoles totales

Esta cuantificación se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu, el mismo que se basa en una reacción redox y en donde los compuestos fenólicos producen una reacción con el reactivo de Folin-Ciocalteu; inicialmente tiene una coloración amarilla y que al ser reducido por los grupos fenólicos da la formación de un complejo de coloración azul intenso. (Yanza, 2017, p. 49)



**Figura 4-1:** Fundamento de la reacción de Folin-Ciocalteu

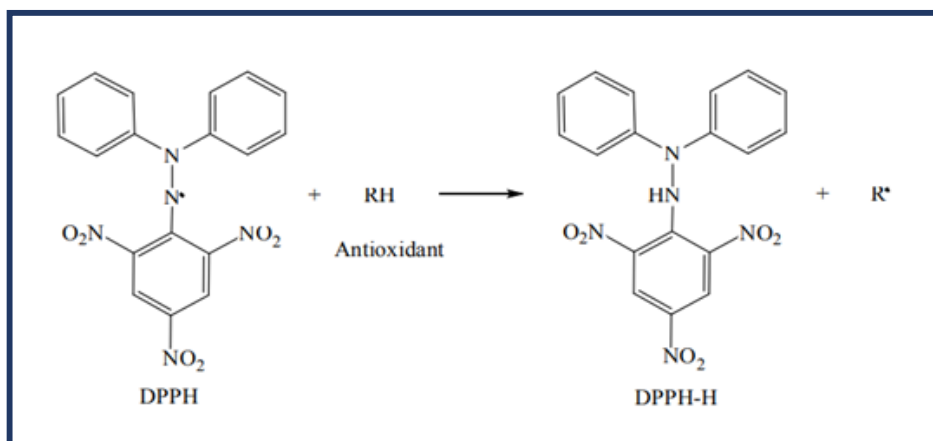
Fuente: (Yanza, 2017, p. 49)

### 1.5.2. Ensayo de la actividad antioxidante (Método DPPH\*)

El método DPPH se lo realiza para evaluar el potencial de eliminación de radicales libres de una molécula antioxidante y es considerado como uno de los métodos colorimétricos estándar por su facilidad para evaluar las propiedades antioxidantes de compuestos puros. (Zamani et al., 2018, p. 3)

El compuesto 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) es un radical libre estable, que se lo emplea como un indicador que puede aceptar un radical de hidrógeno o un electrón para transformarse en una molécula diamagnética estable denominada 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH-H) de color amarillo. (Rahman et al., 2018, p. 14)

En presencia de antioxidantes el DPPH suele cambiar de color púrpura a color amarillo pálido. El DPPH contribuye en adiciones homolíticas con otras especies de radicales R •, dando como resultado derivados RDPPH-H-sustituidos. (Zamani et al., 2018, p. 3)



**Figura 5-1:** Conversión de radical libre DPPH a molécula DPPH-H en presencia de antioxidante

Fuente: (Zamani et al., 2018, p. 4)

## 1.6. Salvia

### 1.6.1. Clasificación Taxonómica

**Tabla 1-1:** Clasificación taxonómica de la Salvia

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Tracheobionta
<b>Clase</b>	Magnoliophyta
<b>Subclase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Asteridae
<b>Familia</b>	Lamiales
<b>Subfamilia</b>	Lamiaceae
<b>Tribu</b>	Nepetoideae
<b>Género</b>	<i>Salvia</i>
<b>Especie</b>	<i>Salvia</i> (S.spp)

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

Fuente: (Guffante, 2013, p. 13)

### 1.6.2. Familia Lamiaceae

También es reconocida botánicamente con el nombre de Labiatae (Labiadas), representa una de las familias de angiospermas más extensas, aproximadamente consta de 240 géneros y más de 7,000 taxones distribuidos en todo el planeta. (Bazarragchaa et al., 2012, p. 169) En muchos países económicamente es importante, ya que algunas de sus especies son empleadas como

condimentos (*Origanum, Thymus, Mentha*), para producir aceites esenciales (*Lavandula, Pogostemon, Salvia*) y como plantas ornamentales (*Coleus, Salvia, Scutellaria*). (Martínez et al., 2013, p. 30)

Estas plantas poseen características aromáticas y está formada por hierbas o arbustos, tiene en todas sus partes glándulas secretoras de aceites esenciales volátiles. Consta de tallos cuadrangulares, sus hojas son opuestas, las inflorescencias están dispuestas en forma de espigas y conformada por grupo de flores formando un tipo de racimo, estas inflorescencias son terminales o laterales. (Fernández y Rivera, 2006, p. 387)

Las flores tienen un cáliz bilabiado o regular de cinco piezas y la corola posee pétalos unidos, con una porción cilíndrica y otra rasgada, conformada de cinco lóbulos parcialmente soldados y que dan forma de dos labios. (Fernández y Rivera, 2006, p. 387)

### **1.6.3. Género *Salvia***

Las especies de *Salvia* constituyen el género más grande en la familia Lamiaceae con más de 1000 especies distribuidas principalmente en América Central y del Sur (500 especies), Asia Central-Mediterráneo (250 especies) y Asia Oriental (100 especies). (Li et al., 2013, p. 274) Esta familia Lamiaceae en el Ecuador registra 21 géneros y 135 especies. (Fernández y Rivera, 2006, p. 388)

La mayoría de las especies son hierbas perennes, pero también existen plantas anuales, arbustos y algunos árboles. El nombre *Salvia* proviene de la palabra latina "salvare", que significa "curar", la cual se han utilizado como planta medicinal para el tratamiento de más de sesenta dolencias diferentes, aunque su principal aplicación ha sido en el tratamiento de resfriados, bronquitis, tuberculosis, hemorragia y trastornos menstruales. (Li et al., 2013, p. 274)

### **1.6.4. Descripción morfológica**

Las especies de *Salvia* se reconocen fácilmente por sus tallos cuadrados y por pares de hojas opuestas, que son generalmente aterciopelados. Las hojas son a menudo rugosas, enteras, dentadas y lobuladas. Las flores se agrupan en racimos y en forma de espigas, son generalmente grandes y de colores brillantes, dependiendo de la especie. Las flores y los tallos son características clave de diagnóstico para la identificación del género. (Kamatou et al., 2008, p. 665)

### 1.6.5. *Hábitat*

La Salvia se produce en diferentes tipos de terreno tales como: pastos, céspedes, peñascos, acantilados, terrenos pedregosos, páramos, etc. El clima adecuado para su crecimiento es el templado, no resiste los terrenos con gran cantidad de agua, así como los inviernos muy fuertes, pero es poco resistente a las heladas, es decir que puede soportar una temperatura de  $-5^{\circ}\text{C}$ . Esta planta es resistente a la sequía pero se daña si este clima es prolongado. (Fernández y Rivera, 2006, p. 389)

### 1.6.6. *Composición química*

La composición química de las Salvias es compleja ya que presenta gran cantidad de metabolitos, los mismos que se localizan en las hojas y flores, entre estos tenemos:

**Tabla 2-1:** Compuestos identificados en especies de Salvia

<b>Compuestos fenólicos</b>	Existen más de 160 polifenoles identificados, comprenden una serie de ácidos fenólicos y flavonoides. Estos compuestos fenólicos incluyen ácido cafeico y sus derivados, ácido rosmarínico, ácido salvianólico, ácido litospérmico, ácido siríngico y ácidos yunnaneico
<b>Flavonoides</b>	Luteolina, apigenina, hispidulina, kaempferol y quercetina
<b>Aceites esenciales</b>	Con una gran variedad de terpenoides que incluyen $\alpha$ y $\beta$ -tuyona, alcanfor, 1,8-cineol, $\alpha$ -humuleno, $\beta$ -cariofileno y viridiflorol. Además, son fuentes ricas en diterpenos y triterpenos, como ácido carnósico, ácido ursólico, carnosol.
<b>Carbohidratos</b>	Arabinosa, galactosa, glucosa, manosa, xilosa, ácidos urónicos y ramnosa
<b>Taninos</b>	
<b>Saponinas</b>	
<b>Resinas</b>	

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

Fuente: (Lopresti, 2017, p. 54) (Ghorbani y Esmailizadeh, 2017, pp. 1–2)

### 1.6.7. *Propiedades terapéuticas*

- **Antiséptica y antiinflamatoria:** disminuye la inflamación en las personas que sufren enfermedades como: artritis reumatoide, arteriosclerosis, asma bronquial, etc.
- **Afecciones estomacales:** reduce e incluso elimina las flatulencias y dispepsias.
- **Antifiaforético:** permite controlar o evitar el excesivo sudor nocturno y la hipersudoración psicomática.

- **Mejora la función cerebral:** permite conservar uno de los principales neurotransmisores como la acetilcolina.
- **Reducción de los síntomas menopáusicos:** se controla levemente la actividad estrogénica, mediante el aceite esencial de la planta.
- **Antibacterial y antiviral:** los aceites esenciales inhiben el virus de DNA y RNA. (Rugel, 2017, pp. 22–23)
- **Bactericidas:** permite controlar las enfermedades respiratorias en general tal como: gripe, infección de la garganta, etc.
- **Cicatrizante:** nos permite curar las lesiones como: cortes, úlceras, etc, además contribuye a la cicatrización e impide que la herida se infecte.
- **Emenagogo:** reduce parcialmente los dolores a causa de la menstruación.
- **Hipoglucemiante:** ayuda a controlar los niveles de glucosa en la sangre.
- **Relajante muscular:** permite el relajamiento muscular a causa de estiramientos o esfuerzos muy grandes producidos por falta de calentamiento.
- **Bucal:** útil para fortalecer las encías, mediante los enjuagues bucales o también frotando las hojas en las encías y los dientes.
- **Canas:** utilizado como tintes naturales para ocultar las canas. (Guffante, 2013, p. 17)

#### 1.6.8. *Toxicidad y efectos adversos*

Diversos ensayos clínicos han informado que el consumo de *S. officinalis* no induce efectos secundarios graves. Sin embargo, en el caso de uso prolongado o después de una sobredosis de extracto etanólico y aceite volátil de *S. officinalis* (que corresponde a más de 15 g de las hojas) pueden ocurrir algunos efectos no deseados como vómitos, salivación, taquicardia, vértigo, bochornos, reacciones alérgicas, deglución de la lengua, cianosis e incluso convulsiones. (Ghorbani y Esmailizadeh, 2017, p. 6)

El alcanfor, la tuyona y las cetonas terpénicas se consideran los compuestos más tóxicos en *S. officinalis*. Estos compuestos pueden inducir efectos tóxicos en el feto y el recién nacido. Por lo tanto, no se recomienda el consumo de *S. officinalis* en el embarazo y la lactancia. Los resultados de estudios en animales han demostrado que la Dosis Letal 50 % (DL50) del aceite de *S. officinalis* (cuando se consume por vía oral) y el extracto metanólico (cuando se inyecta por vía intraperitoneal) es de 2,6 g / kg y 4 g / kg, respectivamente. (Ghorbani y Esmailizadeh, 2017, p. 6)

### 1.7. Salvia real (*Salvia sagittata* Ruiz & Pavón)

**Nombre Común:** Salvia azul, Salvia real



**Figura 6-1:** Salvia real (*Salvia sagittata*)  
**Fuente:** (Oleas et al., 2016, p. 101)

Esta planta fue recogida y nombrada en 1798 por Hipólito Ruiz López y José Antonio Pavón Jiménez, dos botánicos españoles, que pasaron diez años en el Perú y Chile en una comisión por el gobierno de España para ir al Nuevo Mundo en busca de nuevos medicamentos y plantas agrícolas. (Mendoza y Monsalve, 2017, pp. 44–45)

#### 1.7.1. *Morfología*

- **Arbusto:** tiene una altura de 0.6 a 1.3 m, su ramificación es desde la base, tiene tallos poco frondosos, en la base el tallo es grueso, de forma cuadrangular, color verde a marrón.

- **Ramas terminales:** presenta una sección circular a cuadrangular, con un diámetro de 3 a 5 mm.
- **Hojas:** simples, opuestas, acorazonadas, con gran nervadura, los peciolos tienen una longitud de 3.5 a 4.5 cm, su haz es de color verde, mientras que el envés presenta un color blanco. Las hojas son rugosas, pegajosas, tienen un olor característico y vellosidades en las dos caras.
- **Inflorescencias:** se presentan en racimos terminales con una longitud de 5 a 7 cm y tienen dos inflorescencias laterales en su base.
- **Flores:** son hermafroditas, zigomorfas, son de color azulado y en su parte interna presentan manchas en forma de líneas y de color blanco. De forma bilabiada, en donde el labio superior termina en forma de punta mientras que el inferior tiene una forma trilobulada.
- **Frutos:** tienen color marrón y se encuentran en el fondo del cáliz, con una semilla en su interior. (Terreros y Reynel, 2016, p. 58)

### **1.7.2. *Distribución geográfica***

Es nativa de las montañas andinas a una altura de 2900 a 3200 msnm y podemos encontrarla en Ecuador, Colombia y Perú. Se produce en laderas poco inclinadas y despejadas, cerca de las orillas de las acequias, quebradas, caminos, etc. (Terreros y Reynel, 2016, p. 58)

### **1.7.3. *Usos populares***

Se emplea generalmente los tallos, hojas y flores para preparar infusiones, el mismo que presentan propiedades antiinflamatorias. En uso antiespasmódico se debe mezclar con flores de borraja, ruda y manzanilla. También es empleado como aromatizador de productos lácteos si se los envuelve en sus hojas, en uso ornamental es vistoso debido a sus flores. (Terreros y Reynel, 2016, p. 58)

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Lugar de investigación

La presente investigación se realizó en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia:

- Laboratorio de Productos Naturales, Investigación y Desarrollo
- Laboratorio de Química Analítica y Química Instrumental
- Laboratorio de Análisis Clínicos y Bacteriológico
- Bioterio de la Facultad de Ciencias-Escuela de Bioquímica y Farmacia

#### 2.2. Recolección del material vegetal

La planta Salvia real (*Salvia sagittata*) fue recolectada en la Ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo, en el mes de Noviembre del 2017, a una longitud de 78°40'44.5''W y latitud de 1°40'16.6''S.

#### 2.3. Reactivo biológico

Para la determinación de la actividad cicatrizante se emplearon ratones (*Mus musculus*), obtenidos en el Instituto Nacional de Salud Pública (INSPI) de la ciudad de Guayaquil.

#### 2.4. Descripción

- **Número de ratones:** 36
- **Edad:** 2-3 meses
- **Sexo:** hembras y machos
- **Peso:** 25-40 g
- **Alimentación:** 5 gramos de balanceado por cada ratón y agua Ad libidum
- **Cama:** tamo de arroz previamente esterilizado
- **Iluminación:** 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad



## 2.5. Equipos, materiales y reactivos

### 2.5.1. Equipos

Tabla 1-2: Equipos de laboratorio empleados

MÉTODO	EQUIPOS
Secado y trituración de la planta	Molino Arthur H. Thomas
	Estufa RedLine by Binder
Tamizaje Fitoquímico	Balanza analítica Radwag
	Cámara UV Chromato-VUE
Control de calidad de la planta	Balanza analítica Radwag
	Estufa RedLine by Binder
	Desecador
	Mufla Ivymen
Control de calidad del extracto	pH-metro Accumet
Obtención del extracto liofilizado	Refrigerador
	Rotavapor Büchi
	Liofilizador Thermo Savant
	Sonicador Branson
Ensayo para flavonoides, fenoles y antioxidantes	Espectrofotómetro Cole-Parmer
	Agitador vórtex MRC
	Baño maría Memmert
	Balanza analítica Radwag
	Cronómetro
	Agitador magnético
Cromatografía en capa fina para flavonoides	Cámara UV Chromato-VUE
Determinación de la actividad cicatrizante	Autoclave Hirayama
	Balanza analítica Radwag
	Refrigerador
	Cámara de flujo laminar Nuair

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

2.5.2. *Materiales*

**Tabla 2-2:** Materiales de laboratorio empleados

MÉTODO	MATERIALES
<b>Tamizaje Fitoquímico</b>	Tubos de ensayo
	Gradilla para tubos de ensayo
	Pinza para tubos de ensayo
	Reverbero
	Vasos de precipitación 250, 600 mL
	Espátula
	Papel aluminio
	Papel filtro
	Frasco ámbar de 500 mL
	Embudo
	Trípode
	Probeta de 100 mL
	Pipetas graduadas de 1, 5, 10 mL
	Capilares
Pera de succión	
<b>Control de calidad de la planta</b>	Crisoles
	Cápsulas
	Pinza para cápsula
	Espátula
	Reverbero
	Malla metálica
	Papel filtro libre de cenizas
	Vaso de precipitación de 100 mL
<b>Control de calidad del extracto hidroalcohólico</b>	Pizeta
	Vaso de precipitación de 250 mL
	Pipeta graduada de 5 mL
	Tubo de ensayo
<b>Obtención del extracto liofilizado</b>	Balón esmerilado de 500 mL
	Frasco ámbar de 1000 mL
	Espátula
	Papel aluminio
	Papel filtro
	Probeta de 250 mL

<b>Ensayo para flavonoides, fenoles y antioxidantes</b>	Pipetas graduadas de 1, 5, 10 mL
	Balones de aforo de 10, 25, 50, 100, 250 mL
	Espátula
	Pizeta
	Puntas amarillas y azules para pipetas automáticas
	Pipetas automáticas
	Tubos de ensayo
	Gradillas para tubo de ensayo
	Papel aluminio
	Pera de succión
	<b>Cromatografía en capa fina para flavonoides y aceites esenciales</b>
Vaso de precipitación de 100, 250 mL	
Varilla de agitación	
Reverbero	
Pipetas graduadas de 1, 5, 10 mL	
Papel aluminio	
<b>Determinación de la actividad cicatrizante</b>	Carbopol
	Trietanolamina
	Propilenglicol
	Metilparabeno
	Propilparabeno
	Espátula
	Hisopos
	Balón de aforo de 100 mL
	Probeta de 100 mL
	Jeringuillas 1, 3, 5, 20 mL
	Varilla de agitación
	Bisturí
	Frascos de vidrio de 150 mL
	Gasas
	Papel aluminio
	Algodón
Reverbero	
<b>Examen histopatológico</b>	Cuba de vidrio
	Bisturí
	Casetes de biopsia

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

2.5.3. *Reactivos*

**Tabla 3-2:** Reactivos de laboratorio empleados

MÉTODO	REACTIVO
<b>Tamizaje Fitoquímico</b>	Éter etílico
	Alcohol potable 96%
	Sudan II
	Ácido clorhídrico 1%
	Ácido clorhídrico concentrado
	Dragendorff
	Cloruro de sodio en polvo
	Cloroformo
	Hidróxido de sodio
	Amonio al 5%
	Anhidrido acético
	Ácido sulfúrico concentrado
	Carbonato de sodio
	Agua destilada
	Tricloruro férrico al 5%
	Acetato de sodio
Ninhidrina 2%	
Alcohol amílico	
<b>Control de calidad de la planta</b>	Ácido clorhídrico al 10%
	Peróxido de hidrógeno
	Agua destilada
<b>Obtención del extracto liofilizado</b>	Nitrógeno líquido
	Agua destilada
	Alcohol al 70%
<b>Ensayo para flavonoides totales</b>	Quercetina
	Agua destilada
	Nitrato de sodio 5%
	Cloruro de aluminio 10%
	Hidróxido de sodio 1M
<b>Ensayo para fenoles totales</b>	Ácido gálico
	Agua destilada
	Reactivo de Folin-Ciocalteu
	Carbonato de sodio al 7,5%

<b>Ensayo de la actividad antioxidante</b>	Reactivo DPPH*
	Metanol
<b>Cromatografía en capa fina para flavonoides</b>	Alcohol al 70%
	Acetato de etilo
	Ácido fórmico
	Ácido acético glacial
	Agua destilada
<b>Cromatografía para aceites esenciales</b>	Hexano
	Acetato de etilo
	Vainillina
	Alcohol potable 96%
	Ácido sulfúrico
<b>Determinación de la actividad cicatrizante</b>	Alcohol al 50%
	Agua destilada
<b>Examen histopatológico</b>	Formol

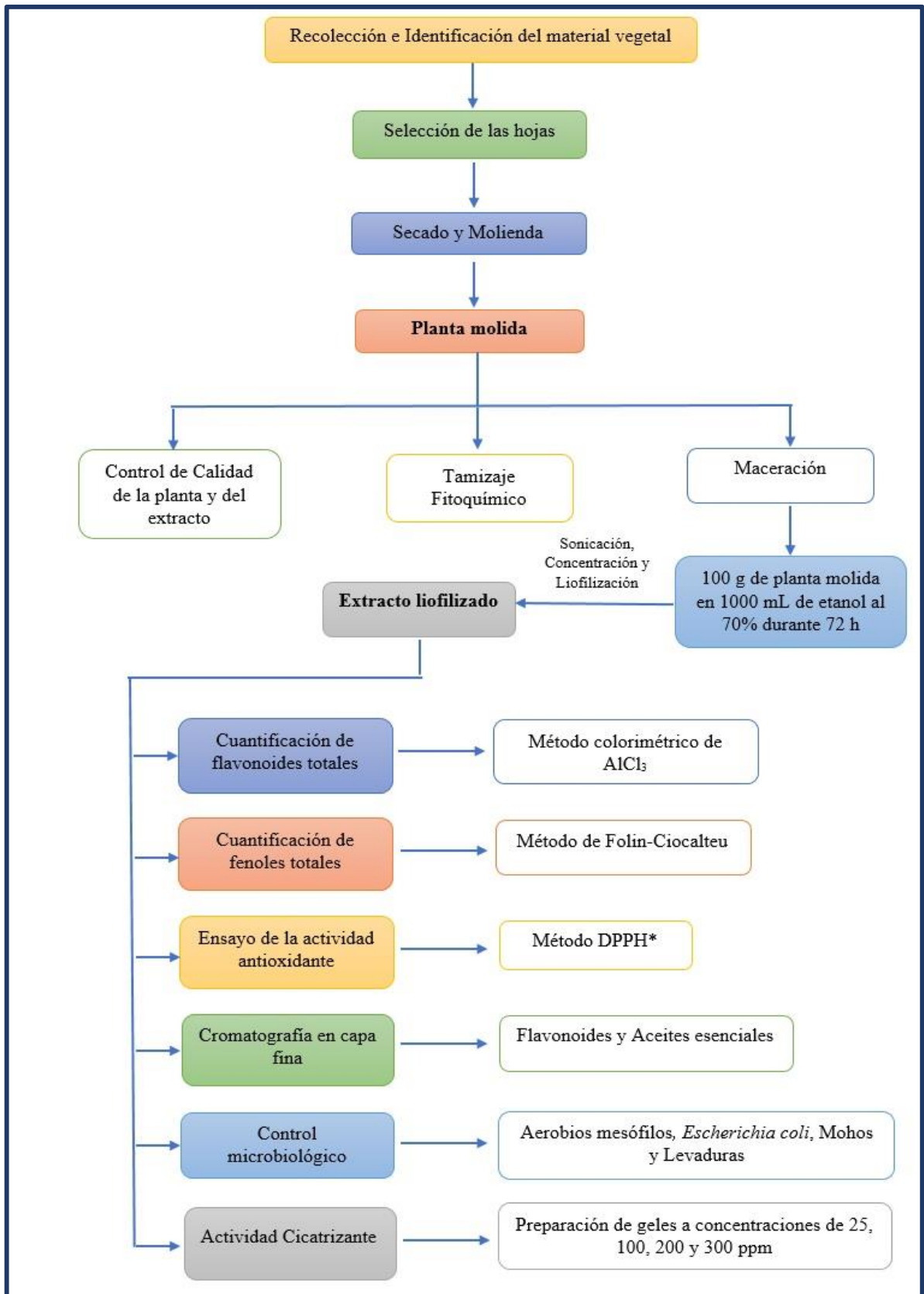
Realizado por: Sandra Díaz, 2018

## 2.6. Técnicas y métodos

Las técnicas y métodos empleados en la investigación se resumen en la Figura 1-2.

### 2.6.1. *Identificación botánica*

La planta fue identificada por el Ing. Jorge Caranqui, responsable del Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. (ANEXO O)



**Figura 1-2:** Técnicas y métodos empleados en la investigación  
 Realizado por: Sandra Díaz, 2018

## **2.6.2.            *Acondicionamiento del material vegetal***

### **2.6.2.1.            *Secado***

Se empleó solamente las hojas de la planta *Salvia sagittata*, las cuales fueron separadas manualmente, seleccionando únicamente las hojas sanas, que no estén incoloras o dañadas a causa de hongos e insectos. A continuación se lavó las hojas eliminando el material extraño como: tierra, polvo, vidrio, etc y finalmente se procedió a secar en la estufa a una temperatura de 45°C.

### **2.6.2.2.            *Molienda***

Una vez secas las hojas, se procedió a pulverizar en un molino de cuchilla giratoria, obteniendo partículas con un tamaño entre 2 a 3 mm y se almacenó en un lugar seco.

## **2.6.3.            *Control de calidad del material vegetal***

### **2.6.3.1.            *Determinación de cenizas totales***

Se procedió a pesar 2 g de muestra molida en el crisol previamente tarado y se incineró en la mufla por 2 horas a 700°C. Luego se colocó el crisol en un desecador y se pesó, este procedimiento se repitió hasta obtener un peso constante. (Miranda, 2002, pp. 8-9)

#### **Fórmula:**

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

C= Porcentaje de cenizas totales

M= Masa del crisol vacío (g)

M<sub>1</sub>= Masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M<sub>2</sub>= Masa del crisol con la ceniza (g)

100= Factor matemático

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

A las cenizas totales obtenidas se añadió 20 mL de agua destilada, se tapó el crisol y se hirvió suavemente durante 5 minutos. La solución obtenida se filtró a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se colocó en el crisol inicial y se carbonizó en un reverbero, para luego incinerar en la mufla a 700°C durante 2h. Posteriormente se colocó el crisol en el desecador y se pesó, este procedimiento se repitió hasta obtener peso constante. (Miranda, 2002, p. 10)

#### **Fórmula:**

$$Ca = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} \times 100$$

Ca= Porcentaje de cenizas solubles en agua

M= Masa del crisol vacío (g)

M<sub>1</sub>= Masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M<sub>2</sub>= Masa del crisol con las cenizas totales (g)

M<sub>a</sub>= Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

100= Factor matemático

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

A las cenizas totales obtenidas se añadió 20 mL de ácido clorhídrico al 10%, se tapó el crisol con un vidrio reloj y se procedió a hervir durante 10 minutos. Se lavó el vidrio reloj con 5 mL de agua destilada caliente y se unió al contenido del crisol. (Miranda, 2002, p. 9)

Posteriormente se filtró la solución a través de un papel filtro libre de cenizas, se lavó el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico no muestre presencia de cloruros, el cual se añadió 2 gotas de nitrato de plata 0.1 mol/L. El filtrado con el residuo se desecó a 105°C, se transfirió al crisol inicial y se procedió a incinerar en una mufla a una temperatura de 700°C, durante 2 h. Transcurrido el tiempo se colocó al crisol a un desecador y se pesó; este procedimiento se repitió hasta obtener peso constante. (Miranda, 2002, p. 9)



**Fórmula:**

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

C= Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

M= Masa del crisol vacío (g)

M<sub>1</sub>= Masa del crisol con la muestra (g)

M<sub>2</sub>= Masa del crisol con las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (g)

100= Factor matemático

**2.6.3.4. Determinación del contenido de humedad**

Se procedió a pesar 2 g de muestra molida en una cápsula previamente tarada, posteriormente se trasladó a la estufa a una temperatura de 105 °C durante 3 horas, transcurrido el tiempo se colocó la cápsula al desecador y se pesó. Se colocó nuevamente la cápsula en la estufa durante 1h y se volvió a pesar hasta obtener un peso constante. (Miranda, 2002, pp. 12–13)

**Fórmula:**

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

Hg= Pérdida en peso por desecación (%)

M= Masa de la cápsula vacía (g)

M<sub>1</sub>= Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

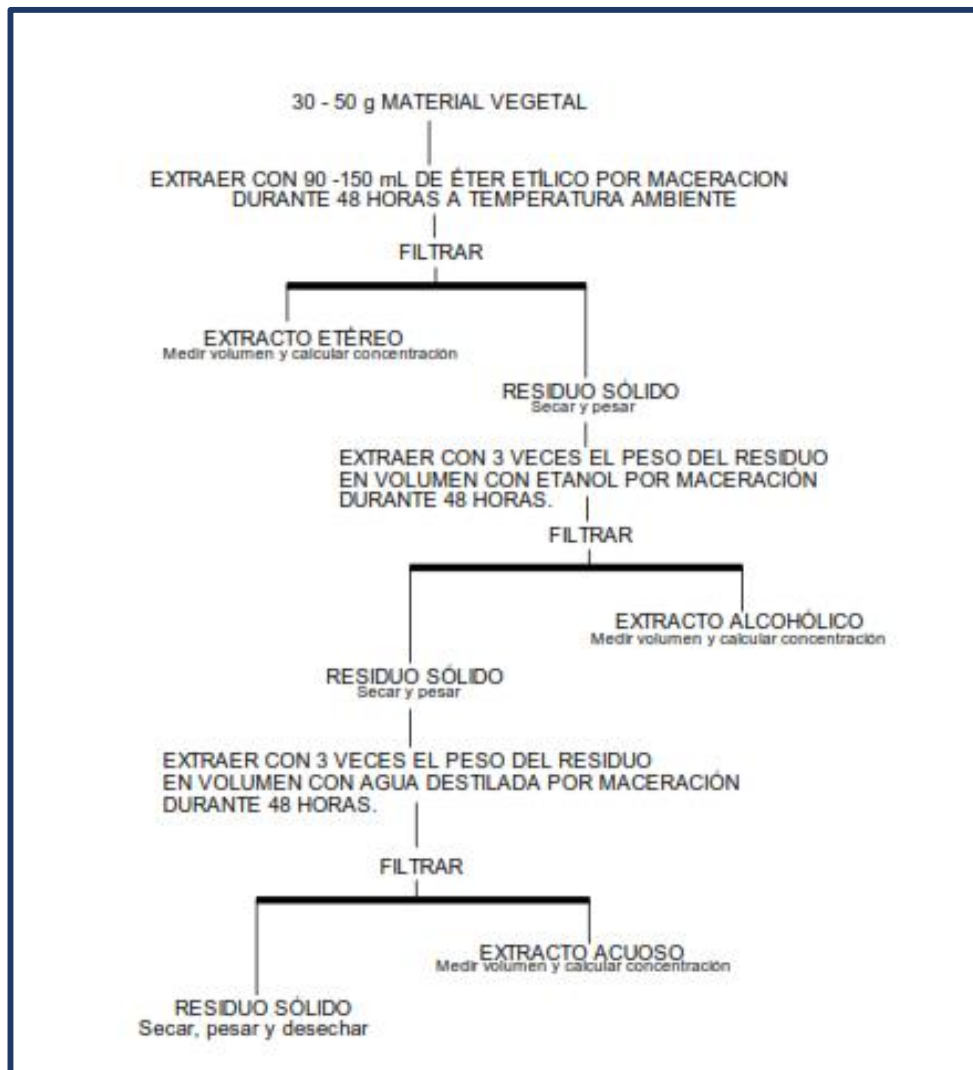
M<sub>2</sub>= Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

100= Factor matemático

**2.6.4. Tamizaje fitoquímico**

Con el tamizaje fitoquímico se evalúa la presencia de compuestos activos de la planta, mediante el empleo de solventes adecuados y se basa en la formación de precipitados o cambio de color. Es un método de análisis rápido, reproducible, económico, que permite tener una idea de los posibles compuestos libres o que toman forma de glicósidos de una planta. (Guamán, 2015, p. 42)

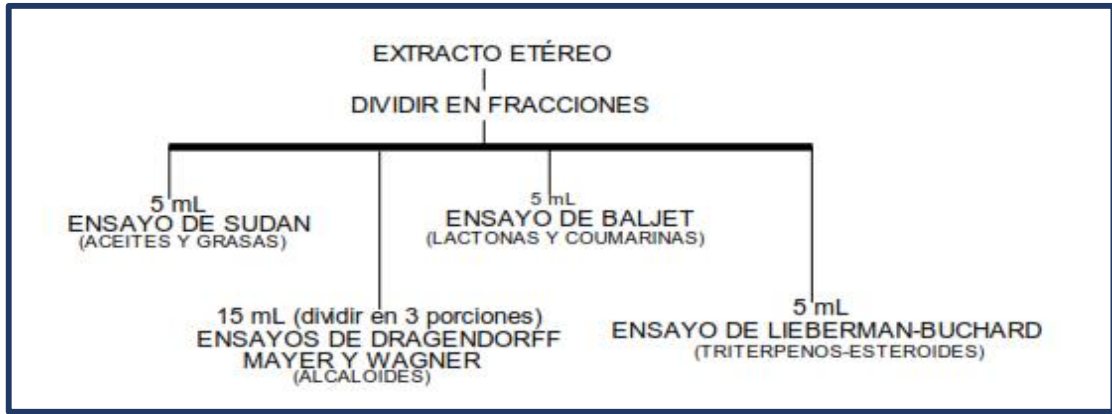
Las pruebas del tamizaje fitoquímico se realizaron según el esquema que se presenta en la Figura 2-2.



**Figura 2-2:** Esquema de extracción sucesiva del material vegetal para efectuar los ensayos respectivos del tamizaje fitoquímico

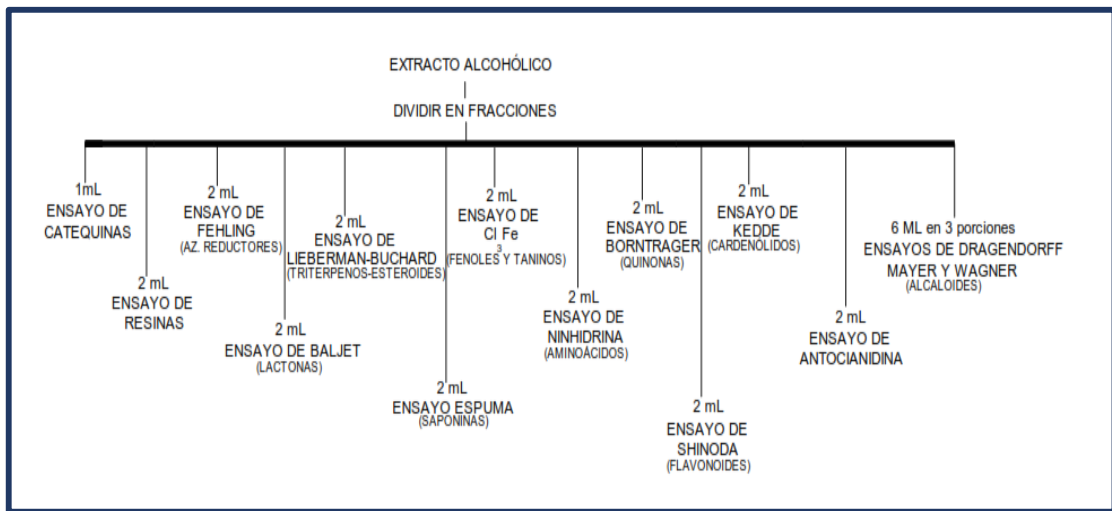
**Fuente:** (Miranda, 2002, p. 17)

Una vez obtenido los extractos se realizaron los ensayos correspondientes para cada uno, como se detalla a continuación



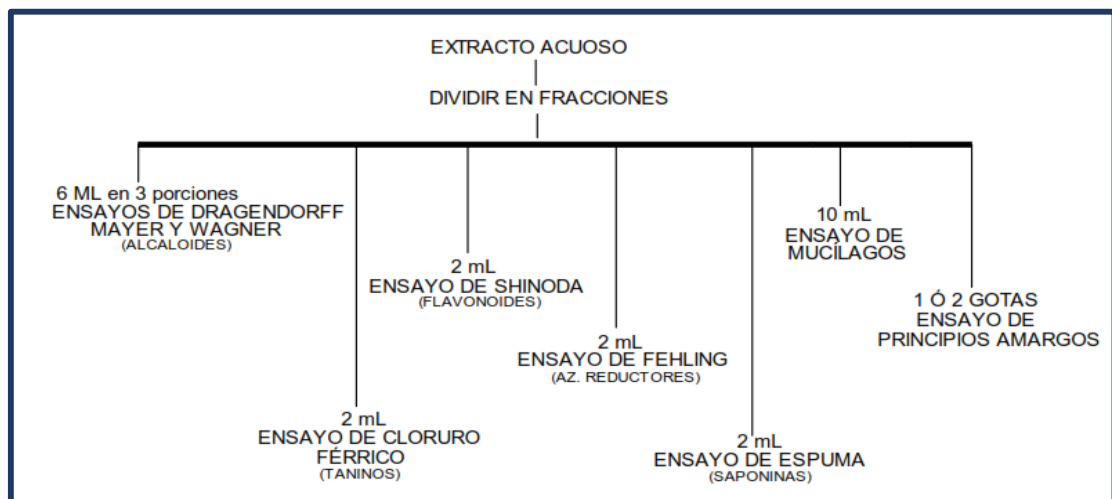
**Figura 3-2:** Reacciones efectuadas en el extracto etéreo

Fuente: (Miranda, 2002, p. 18)



**Figura 4-2:** Reacciones efectuadas en el extracto alcohólico

Fuente: (Miranda, 2002, p. 18)



**Figura 5-2:** Reacciones efectuadas en el extracto acuoso

Fuente: (Miranda, 2002, p. 19)

### **2.6.5.            *Obtención del extracto hidroalcohólico de Salvia sagittata***

Se pesó 100 g de la planta molida y con ayuda de un embudo se transfirió a un frasco ámbar. Posteriormente se agregó 1000 mL de alcohol al 70%, macerando por 72 horas. Transcurrido el tiempo se procedió a filtrar y el extracto obtenido se almacenó en un frasco ámbar para su posterior utilización en el control de calidad y obtención del extracto liofilizado.

### **2.6.6.            *Obtención del extracto liofilizado de Salvia sagittata***

Se colocó el extracto hidroalcohólico en un balón esmerilado, el mismo que se llevó a un rotavapor a 50°C, eliminando todo el disolvente a través de una destilación a vacío y obteniendo de esta manera un extracto bruto. Posteriormente se empleó baños de ultrasonido durante 30 minutos, se transfirió el extracto en un vaso de liofilización, se sometió a congelación empleando nitrógeno líquido e inmediatamente se colocó en el liofilizador.

Se abrió la válvula de vacío y se encendió la bomba de vacío ocurriendo el proceso de sublimación. El proceso de liofilización se realizó por varias horas hasta que la muestra se encuentre completamente seca, logrando finalmente obtener un extracto seco, el mismo que se los almacenó en un desecador para evitar que entre nuevamente la humedad.

### **2.6.7.            *Control de calidad del extracto hidroalcohólico***

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

- **Determinación del color:** en un tubo de ensayo totalmente limpio y seco, se adicionó 5 mL del extracto y posteriormente se observó color, presencia de partículas y separación de las capas. (Miranda, 2002, p. 51)

#### **2.6.7.2.            *Determinación del pH***

Primero se calibró el pH-metro empleando una solución buffer, se procedió a colocar el electrodo en el extracto y se registró el valor del pH dado por el equipo. (Miranda, 2002, p. 54)

## **2.6.8. Cromatografía en capa fina**

### **2.6.8.1. Análisis cromatográfico para flavonoides**

Se disolvió una pequeña cantidad del extracto liofilizado en alcohol al 70%, a través de un capilar se colocó la muestra en la placa cromatográfica de sílica gel con soporte de aluminio y se dejó secar. Luego se transfirió la placa a un vaso de precipitación de 250 mL, en la cual se encontraba la fase móvil que fue Acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100: 11: 11: 18), se tapó con papel aluminio y se dejó hasta que el solvente recorriera las tres cuartas partes de la placa. Finalmente se retiró la placa, se dejó secar y se observó en la cámara UV.

### **2.6.8.2. Análisis cromatográfico para aceites esenciales**

Se disolvió una pequeña cantidad del extracto liofilizado en acetato de etilo, a través de un capilar se colocó la muestra en la placa cromatográfica de sílica gel con soporte de Aluminio y se dejó secar. Luego se transfirió la placa a un vaso de precipitación de 250 mL, en la cual se encontraba la fase móvil que fue Hexano: Acetato de etilo (3:1), se tapó con papel aluminio y se dejó hasta que el solvente recorriera las tres cuartas partes de la placa.

Posteriormente se retiró la placa, se dejó secar y se reveló con (Vainillina: Etanol) y (Etanol: Ácido sulfúrico) en proporción de (1:6) y (80:20) respectivamente. Finalmente se sometió a calor hasta la aparición de las manchas.

#### **Cálculo:**

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

## **2.6.9. Cuantificación de fenoles totales**

Se realizó la curva de calibración utilizando como solución estándar ácido gálico a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, se preparó la muestra problema a partir del extracto liofilizado.

**Procedimiento:** En un balón de aforo de 25 mL, se colocó 250 µL de la solución estándar o de la muestra problema, luego se agregó 15 mL de agua destilada y 1.25 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu. Posteriormente se vortizó por 30 segundos, se dejó en obscuridad durante 8 minutos, se adicionó 3.75 mL de solución de carbonato de sodio al 7.5% y se aforó con agua destilada.

Se vortizó durante 5 segundos dejando en obscuridad por 2 horas. Finalmente se midió en el espectrofotómetro la absorbancia a una de onda de 765 nm.

#### **2.6.10.            *Cuantificación de flavonoides totales***

El contenido total de flavonoides se determinó empleando el método colorimétrico de cloruro de aluminio; en donde se elaboró la curva de calibración, empleando como solución estándar quercetina a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. Posteriormente se procedió a preparar la muestra problema a partir del extracto liofilizado. Una vez preparadas la solución estándar y la muestra problemas se realizó el siguiente procedimiento:

En un tubo de ensayo seco y limpio se colocó 1 mL de la solución estándar o de la muestra problema, luego se adicionó 4 mL de agua destilada y 0.3 mL de solución de nitrato de sodio 5%. Se colocó los tubos de ensayo en obscuridad durante 5 minutos, transcurrido el tiempo se agregó 0.3 mL de cloruro de aluminio 10%, se vortizó durante 1 minuto y se colocó nuevamente en obscuridad por 5 minutos.

Posteriormente se añadió 2 mL de hidróxido de sodio 1M, se vortizó por 15 segundos y se dejó en obscuridad por 15 minutos. Finalmente se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm.

#### **2.6.11.            *Ensayo de la actividad antioxidante (Método DPPH\*)***

Se pesó 6,9 mg del reactivo DPPH\* y se aforó a 250 mL con metanol. Se procedió a medir la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm cada 30 minutos hasta que el reactivo se encuentre dentro del rango entre 0.6 a 0.8 para poder realizar el ensayo correspondiente. Posteriormente se preparó las muestras del extracto y de la solución estándar (ácido gálico) a concentraciones de 10, 20, 50, 100, 200, 500 y 1000 ppm.

**Procedimiento:** En un tubo de ensayo se colocó 3.9 mg de la solución de DPPH\* agregando 100 µL de muestra del extracto o solución estándar llevando a baño maría a 37°C durante 30

minutos. Transcurrido el tiempo se dejó en obscuridad durante 20 minutos midiendo la absorbancia a la misma longitud de onda utilizada. Se repitió el procedimiento con cada una de las concentraciones preparadas.

#### **2.6.12. Control microbiológico**

El análisis microbiológico se realizó en un laboratorio independiente (SAQMIC), empleando los siguientes métodos de ensayo para la determinación de: coliformes totales (INEN 1529-7), aerobios mesófilos (INEN 1529-5) y mohos y levaduras (INEN 1529-10). (ANEXO P)

#### **2.6.13. Determinación de la actividad cicatrizante**

##### **2.6.13.1. Preparación de los geles**

Los extractos liofilizados de Matico (*Eupatorium glutinosum*) y Salvia real (*Salvia sagittata*) fueron diluidos en alcohol al 50%, de los cuales se obtuvo las siguientes concentraciones: para el Matico a 200 ppm y con la Salvia real a 25, 100 y 300 ppm.

**Procedimiento:** Se preparó una suspensión coloidal de carbopol, previamente hidratada (24 horas), posteriormente se agregó el extracto a las concentraciones definidas, se adicionó unas pocas gotas de propilenglicol y trietanolamina y se homogenizó. Finalmente se adicionó unas gotas de metil y propilparabeno, se mezcló; obteniendo el gel respectivo.

##### **2.6.13.2. Fase de inducción de la herida en los ratones (*Mus musculus*)**

Se aplicó crema depilatoria Veet en la zona a depilar durante 5 minutos y con ayuda de una gasa húmeda se procedió a retirar la crema. Se procedió a poner un ratón en cada jaula y se dejó en observación durante 24 horas, con el propósito de destacar reacciones alérgicas.

Transcurrido el tiempo se anestesió al ratón por vía subcutánea empleando lidocaína (solución inyectable), se señaló la zona de incisión y con ayuda de un bisturí se realizó el corte con una longitud de 1.5 cm.

### 2.6.13.3. Fase de tratamiento

Se utilizó un total de 36 animales de experimentación divididos en grupos de 6, subdivididos en 3 machos y 3 hembras respectivamente. En la cual cada grupo fue asignado de la siguiente manera:

**Tabla 4-2:** Distribución de los grupos experimentales

Control (-)	Control (+)		Extracto C1	Extracto C2	Extracto C3
A1	B1	C1	D1	E1	F1
A2	B2	C2	D2	E2	F2
A3	B3	C3	D3	E3	F3
A4	B4	C4	D4	E4	F4
A5	B5	C5	D5	E5	F5
A6	B6	C6	D6	E6	F6

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

#### Donde:

- **A:** grupo sin tratamiento
- **B:** grupo tratados con medicamento (Ungüento Dérmico Antibiótico)
- **C:** grupo tratados con gel a base de extracto de Matico (*Eupatorium glutinosum*) a 200 ppm
- **D:** grupo tratados con gel a base de extracto de *Salvia sagittata* (C1) a 25 ppm
- **E:** grupo tratados con gel a base de extracto de *Salvia sagittata* (C2) a 100 ppm
- **F:** grupo tratados con gel a base de extracto de *Salvia sagittata* (C3) a 300 ppm

Posteriormente se aplicó con ayuda de un hisopo estéril el gel correspondiente a cada uno de los grupos, dos veces al día y por el tiempo necesario hasta que se cicatrice completamente la herida. Se recogió los datos de cada ratón, en la cual se midió la longitud y ancho de la herida y el tiempo de cicatrización.



#### 2.6.13.4. *Examen histopatológico*

Una vez obtenido las heridas cicatrizadas, se procedió a sacrificar a los animales utilizando éter etílico, luego se realizó el corte del área donde se encuentra la cicatriz, se colocó en los casetes de biopsia codificadas y se trasladó a un frasco con formol, para su posterior análisis histopatológico, realizado en el Hospital Oncológico SOLCA. (ANEXO N)

#### 2.6.13.5. *Análisis estadístico*

Los resultados de la investigación fueron registrados en el programa estadístico SPSS 21, estos datos fueron analizados por test de Anova de un factor y test de Tukey para la determinación de la actividad cicatrizante.

## CAPÍTULO III

### 3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1. Control de calidad del material vegetal

**Tabla 1-3:** Resultados de los parámetros de calidad del material vegetal

PARÁMETROS	RESULTADO (%)	ESPECIFICACIONES
<b>Humedad</b>	7.82 ± 0.57	14%
<b>Cenizas totales</b>	4.50 ± 0.16	5%
<b>Cenizas solubles en agua</b>	1.79 ± 0.30	2%
<b>Cenizas insolubles en ácido clorhídrico</b>	0.91 ± 0.07	1%

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

La determinación del contenido de humedad evalúa la eficiencia del proceso de secado y el almacenamiento del material vegetal. La existencia de una gran cantidad de agua en la planta provocará que los microorganismos, hongos e insectos crezcan en exceso y además se originará la hidrólisis de los distintos metabolitos, causando el deterioro del material vegetal; por lo que es importante obtener un valor dentro de las especificaciones establecidas; es así que el resultado obtenido de las hojas de *Salvia sagittata* es del 7.82%, valor que se encuentra dentro del rango determinado por la Real Farmacopea Española (2002). (World Health Organization, 2011, p. 33) (Vidaurre et al., 2007, p. 127)

Los resultados obtenidos en cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico fueron de 4.50%, 1.79% y 0.91% respectivamente, los mismos que se encuentran dentro de los límites establecidos por la Real Farmacopea Española (2002), estos resultados indicaron que las hojas siguieron un proceso adecuado de recolección, lavado, secado y almacenado.

Las cenizas totales aportan la información acerca de la calidad del material vegetal con la que se trabajó, además es un indicativo de la pureza, presencia o algún tipo de adulteración que pueda sufrir el material vegetal como: cuerpos extraños, materias inorgánicas, etc. (Guaycha et al., 2017, pp. 64–65)

El análisis de las cenizas solubles en agua proporciona la cantidad de metales pesados presentes en el material vegetal, mientras que las cenizas insolubles en ácido clorhídrico determinan silicatos originarias de arena y tierra silíceas debido a una irregular recolección del material vegetal. (World Health Organization, 2011, p. 29)

### 3.2. Tamizaje fitoquímico

**Tabla 2-3:** Resultados del tamizaje fitoquímico de la *Salvia sagittata*

ENSAYO (METABOLITO)	INDICADOR	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ETANÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
<b>Sudan</b> (Aceites y Grasas)	Gotas o una película de color rojo	(+)	(NA)	(NA)
<b>Dragendorff</b> (Alcaloides)	Opalescencia (+)	(-)	(+)	(++)
<b>Mayer</b> (Alcaloides)	Turbidez definida (++) Precipitado (+++)	(-)	(-)	(+)
<b>Wagner</b> (Alcaloides)		(-)	(+)	(++)
<b>Baljet</b> (Lactonas y Cumarinas)	Color rojo (++) Precipitado rojo (+++)	(-)	(-)	(NA)
<b>Liebermann-Burchard</b> (Triterpenos y/o Esteroides)	Rosado-azul, verde intenso-visible o verde oscuro-negro (Positivo)	(++)	+++	(NA)
<b>Catequinas</b> (Catequinas)	Color verde carmelita sobre la mancha (Positivo)	(NA)	(-)	(NA)
<b>Resinas</b> (Resinas)	Precitado (Positivo)	(NA)	(+++)	(NA)
<b>Fehling</b> (Azúcares reductores)	Color o precipitado rojo (Positivo)	(NA)	(-)	(-)
<b>Espuma</b> (Saponinas)	Altura más de 2 mm y permanencia por más de 2 minutos (Positivo)	(NA)	(+++)	(+++)
<b>Tricloruro férrico</b> (Fenoles y Taninos)	Coloración azul, rojo-vino o verde intenso (Positivo)	(NA)	(++)	(++)
<b>Ninhidrina</b> (Aminoácidos libres o Aminas)	Coloración azul violáceo (Positivo)	(NA)	(-)	(NA)
<b>Borntrager</b> (Quinonas)	Fase superior acuosa alcalina de color rosado (++) , color rojo (+++)	(NA)	(-)	(NA)

<b>Shinoda (Flavonoides)</b>	Coloración amarillo, naranja, carmelita o rojo en el alcohol amílico (Positivo)	(NA)	(+)	(++)
<b>Antocianidina (Flavonoides)</b>	Color rojo a marrón en la fase amílica (Positivo)	(NA)	(+)	(NA)
<b>Mucílagos (Polisacáridos)</b>	Consistencia gelatinosa (Positivo)	(NA)	(NA)	(-)
<b>Principios amargos y astringentes (Principios Amargos)</b>	Sabor	(NA)	(NA)	Amargo

**Interpretación:** (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia, (NA) No Aplica  
**Realizado por:** Sandra Díaz, 2018

En la Tabla 2-3 muestra los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico indicando la presencia de metabolitos para: aceites y grasas, alcaloides, triterpenos, esteroides, resinas, saponinas, fenoles, taninos, flavonoides y principios amargos. No existen referencias bibliográficas al respecto de la planta *Salvia sagittata* para una comparación, sin embargo investigaciones realizadas referentes al Género *Salvia* según Ramu y Colaboradores (2012) determinó la presencia de flavonoides (ácido cafeico, quercetina y luteolina), triterpenoides y esteroides ( $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -amirina) y derivados cinámicos (ácido clorogénico) en la *Salvia officinalis*, algunos de los cuales son comunes en las dos especies de Salvias. (Ramu et al., 2012, p. 687)

Rugel, Priscila en el año 2017 realizó una investigación sobre la “Determinación de la actividad antiinflamatoria de la planta *Salvia quitensis* mediante inhibición de edema plantar inducido por carragenina en ratas *Rattus norvegicus*”, identificando la presencia de metabolitos secundarios como: flavonoides, triterpenos/esteroides, fenoles, alcaloides, taninos, resinas y saponinas, los mismos que concuerdan con los resultados obtenidos en la presente investigación. (Rugel, 2017, p. 45)

Sánchez y Colaboradores (2005) realizó la Caracterización farmacognóstica de *Salvia officinalis* L que por medio del tamizaje fitoquímico, determinó la existencia de: flavonoides, fenoles, esteroides, triterpenos, mucílagos, azúcares, aceites esenciales, carotenos y taninos, compuestos que coinciden con los datos obtenidos en la Tabla 2-3 a excepción de mucilagos, azúcares y carotenos. (Sánchez et al., 2005)

En el análisis fitoquímico de la *Salvia coccinea* que crece en Cuba realizado por Sierra, et al. (2011), se determinó la presencia de compuestos en los extractos hidroalcohólicos de tallos, hojas y flores los cuales fueron: saponinas, fenoles, azúcares, taninos, principios amargos, grupos amino, alcaloides y flavonoides y que al compararlos con los resultados de la Tabla 2-3,

podemos observar que estas especies contienen compuestos comunes en la mayoría de los casos. (Sierra et al., 2011, p. 57)

### 3.3. Control de calidad del extracto hidroalcohólico

**Tabla 3-3:** Control de calidad del extracto hidroalcohólico de *Salvia sagittata*

PARÁMETROS		RESULTADO
Requisitos organolépticos	Color	Verde oscuro
	Sabor	Amargo
pH		6.23

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

Los resultados obtenidos en la Tabla 3-3 se observan que los requisitos organolépticos presentaron un color verde oscuro y sabor amargo, los mismos que son propio de la planta y del solvente empleado.

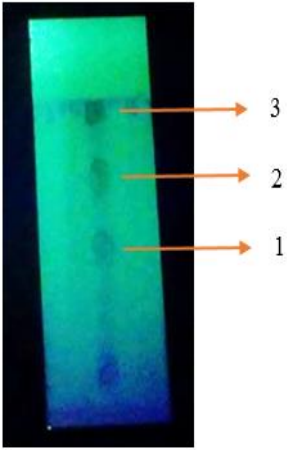
El resultado obtenido en lo referente al pH fue de 6.23, siendo así que el extracto hidroalcohólico es ligeramente ácido, debido a que los compuestos (metabolitos secundarios) contribuyen con características ácidas débiles como: flavonoides, fenoles, taninos, saponinas, esteroides y triterpenos. (Padró y Marín, 2008, p. 21)

### 3.4. Cromatografía en capa fina

#### 3.4.1. Análisis cromatográfico para flavonoides

La fase móvil empleada para la determinación de flavonoides fue: Acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100: 11: 11: 18).

**Tabla 4-3:** Posibles compuestos de flavonoides identificados en el extracto liofilizado de *Salvia sagittata*

	MANCHAS OBSERVADAS	CÁLCULO Rf	Rf TEÓRICO (POSIBLE COMPUESTO IDENTIFICADO)
1		$Rf = 3.2/7 = 0.46$	Rf ~ 0.45 (Ácido clorogénico)
2		$Rf = 5/7 = 0.71$	Rf 0.70-0.80 (Quercetina)
3		$Rf = 6.5/7 = 0.93$	Rf 0.9-0.95 (Ácido cafeico y Ácido ferúlico)

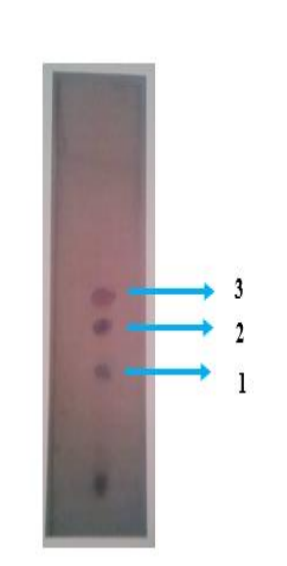
Realizado por: Sandra Díaz, 2018

La Tabla 4-3 indica los resultados de la cromatografía en capa fina, en la cual encontramos los posibles compuestos pertenecientes a los flavonoides, los mismos que son: ácido clorogénico, quercetina, ácido cafeico y ácido ferúlico, valores que fueron comparados según referencia bibliografía, con el fin de identificar qué tipo de compuesto se trata. (Wagner y Bladt, 2001, pp. 195–213)

### 3.4.2. *Análisis cromatográfico para aceites esenciales*

La fase móvil empleada para la identificación de aceites esenciales fue: Hexano: Acetato de etilo (3:1); como revelador (Vainillina: Etanol) y (Etanol: Ácido sulfúrico) en proporción de (1:6) y (80:20) respectivamente.

**Tabla 5-3:** Posibles compuestos de aceites esenciales identificados en el extracto liofilizado de *Salvia sagittata*

	MANCHAS OBSERVADAS	CÁLCULO Rf	Rf TEÓRICO (POSIBLE COMPUESTO IDENTIFICADO)
	1		$Rf = 2.3/7 = 0.33$
2		$Rf = 3.3/7 = 0.47$	Rf 0.44-0.47 (1,8-Cineol)
3		$Rf = 3.7/7 = 0.53$	Rf 0.52 (Timol)

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

La Tabla 5-3 muestra los resultados de los posibles compuestos de aceites esenciales realizados en cromatografía en capa fina, en donde los Rf obtenidos fueron comparados según referencias bibliográficas obteniendo los siguientes compuestos: acetato de bornilo, alcoholes terpénicos, 1,8-cineol y timol. (Sánchez et al., 2005) (Wagner y Bladt, 2001, pp. 149–185)

### 3.5. Cuantificación de fenoles totales

Se construyó la curva de calibración de ácido gálico con unas concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm y obtenemos como resultado la siguiente ecuación de la recta:  $A = 0.001C + 0.0017$  ( $R^2 = 0.999$ ). Mediante esta ecuación se obtuvo la concentración de fenoles totales del extracto liofilizado del Matico (*Eupatorium glutinosum*) y Salvia real (*Salvia sagittata*), empleando el dato de la absorbancia obtenida espectrofotométricamente de cada uno de los extractos. Los resultados obtenidos se expresaron en mg de equivalentes de ácido gálico /100 g de extracto liofilizado.

**Tabla 6-3:** Cuantificación de fenoles totales del extracto liofilizado de *Eupatorium glutinosum* y *Salvia sagittata*

<b>EXTRACTO LIOFILIZADO</b>	<b>CONCENTRACIÓN</b>	<b>mg GAE /100g de Extracto liofilizado</b>	<b>PORCENTAJE (%)</b>
<b>Matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>)</b>	300 ppm	1354.444 ± 19.245	13.544 ± 0.192
<b>Salvia real (<i>Salvia sagittata</i>)</b>	600 ppm	843.889 ± 9.623	8.439 ± 0.096

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

En la Tabla 6-3 se observa que el *Eupatorium glutinosum* a una concentración de 300 ppm dio un valor de 1354.444 mg GAE/100g de extracto liofilizado; mientras que la *Salvia sagittata* a una concentración de 600 ppm presentó un valor de 843.889 mg GAE/100g de extracto liofilizado, siendo así que ambos extractos liofilizados contienen fenoles totales, pero el que presenta mayor cantidad del contenido fenólico total es el matico.

Bahadori y colaboradores en el año 2015 realizaron una investigación acerca de la Composición química y actividades antimicrobianas, citotóxicas, antioxidantes y enzimáticas inhibitoras de *Salvia spinosa* L, en la cual se evidenció que en el extracto metanólico exhibió un extraordinario contenido de fenol total con un valor de  $377.6 \pm 10.3$  mg GAE/g de peso seco del extracto, que al compararlo con el resultado obtenido en la investigación, el extracto liofilizado de *Salvia sagittata* presenta un valor bajo de fenoles totales. (Bahadori et al., 2015, p. 731)

Hamdy y colabores (2013) Evaluaron la actividad antioxidante, fenoles totales y compuestos fenólicos en extractos de tomillo (*Thymus vulgaris* L.), salvia (*Salvia officinalis* L.) y mejorana (*Origanum majorana* L.), mostraron que el contenido fenólico total de *Salvia officinalis* fue dominante en el extracto de metanol, seguido por etanol, dietiléter y hexano donde se obtuvo valores de 5.95, 5.80, 4.70, y 4.25 mg GAE/g del extracto seco respectivamente, presentando valores altos de fenoles totales con respecto al extracto liofilizado de *Salvia sagittata*. (Hamdy et al., 2013, p. 829)

Alimpić y colaboradores (2017) realizaron un estudio sobre Actividades biológicas y composición química de *Salvia amplexicaulis* Lam. extractos, en la cual presentó gran cantidad de fenoles totales en los extractos de agua y etanol de 215.3 y 136.3 mg GAE/g del extracto seco, respectivamente, siendo estos resultados superiores al valor obtenido en el extracto de *Salvia sagittata*. (Alimpić et al., 2017, p. 4)



En lo referente al extracto de *Eupatorium glutinosum* dio un valor de 1354.444 mg GAE/100g de extracto liofilizado y comparando con la investigación realizada por Rugel Anabel (2017), en donde se obtuvo un resultado de 43.663 mg GAE/mL de extracto. Podemos evidenciar que no hay una forma de relación, ya que se emplearon métodos de extracción diferentes para la determinación de contenido de fenoles totales. (Rugel, 2017, p. 51)

Los resultados obtenidos del contenido fenólico total, dependen de factores tales como: especie de la planta, hábitat, región geográfica, temporada de recolección, partes de las plantas utilizadas para el análisis, condiciones de almacenamiento, métodos de extracción empleados, etc; factores que intervienen en el aumento o disminución del rendimiento y por lo tanto a la composición de los extractos obtenidos. (Alimpić et al., 2017, p. 4) (Duletić et al., 2018, pp. 103–104)

Los fenoles son componentes vegetales muy importantes debido a su capacidad de eliminación de radicales libres debido a sus grupos hidroxilo, es decir, el contenido fenólico de las plantas puede contribuir directamente a su acción antioxidante. (Ramu et al., 2012, p. 688)

Las plantas pertenecientes a la familia Lamiaceae son muy ricas en compuestos polifenólicos. Los principales compuestos fenólicos identificados en los extractos de *Salvia* son ácido clorogénico, ácido rosmarínico, ácido carnósico y ácido salvianólico. Entre estos, el ácido rosmarínico y el ácido clorogénico son los principales constituyentes de muchas especies de *Salvia* y tienen fuertes actividades antioxidantes. (Ramu et al., 2012, p. 688)

### **3.6. Cuantificación de flavonoides totales**

Se elaboró la curva de calibración de quercetina con unas concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm y obtenemos como resultado la siguiente ecuación de la recta:  $A = 0.0014C + 0.0144$  ( $R^2 = 0.9990$ ). Mediante esta ecuación se obtuvo la concentración de fenoles totales del extracto liofilizado del Matico (*Eupatorium glutinosum*) y *Salvia* real (*Salvia sagittata*), empleando el dato de la absorbancia obtenida espectrofotométricamente de cada uno de los extractos. Los resultados obtenidos se expresaron en mg de equivalentes de quercetina /100 g de extracto liofilizado.

**Tabla 7-3:** Cuantificación de flavonoides totales del extracto liofilizado de *Eupatorium glutinosum* y *Salvia sagittata*

<b>EXTRACTO LIOFILIZADO</b>	<b>CONCENTRACIÓN</b>	<b>mg QE /100 g de Extracto liofilizado</b>	<b>PORCENTAJE (%)</b>
<b>Matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>)</b>	100 ppm	169.733 ± 3.134	1.697 ± 0.031
<b>Salvia real (<i>Salvia sagittata</i>)</b>	300 ppm	166.959 ± 1.045	1.670 ± 0.010

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

La Tabla 7-3 se observa que el extracto de *Eupatorium glutinosum* a una concentración de 100 ppm presentó un valor de 169.733 mg QE/100g de extracto liofilizado; mientras que en el extracto de *Salvia sagittata* a una concentración de 300 ppm presentó un valor de 166.959 mg QE/100g de extracto liofilizado, en la cual el contenido de flavonoides totales es mayor en el extracto del Matico en comparación con el extracto de *Salvia sagittata*.

En el artículo anteriormente mencionado por Bahadori y colaboradores en el año 2015, *Salvia spinosa* presentó un mayor contenido total de flavonoides en el extracto metanólico con un valor de 134.8 ± 6.6 mg QE/g de peso seco del extracto, cuyo resultado es superior con respecto al extracto de *Salvia sagittata*. (Bahadori et al., 2015, p. 731)

Alimpić y colaboradores (2017) en la investigación descrita anteriormente, *Salvia amplexicaus* mostró una concentración mayor de flavonoides totales en el extracto de acetato de etilo que fue de 76.0 mg QE/g del extracto seco, en la cual presenta gran cantidad de flavonoides en esta especie referente al extracto de *Salvia sagittata*. (Alimpić et al., 2017, p. 4)

Duletić y colaboradores en el año 2018 realizaron un estudio sobre la Composición y actividades biológicas de Libia *Salvia fruticosa* Mill. y *S. lanigera* Poir. extractos; en la cual el extracto de diclorometano de *S. fruticosa* y el extracto de acetato de etilo de *S. lanigera* mostraron la mayor cantidad de flavonoides 38.38 y 51.59 mg QE/g de extracto seco, respectivamente; mientras que en la investigación realizada con el extracto liofilizado de *Salvia sagittata* se obtuvo un valor de 166.959 mg QE /100 g de extracto liofilizado, lo que significa que los primeros datos son evidentemente mayores que los obtenidos en la última investigación. (Duletić et al., 2018, p. 104)

En la cuantificación de flavonoides totales para el Matico (*Eupatorium glutinosum*) dio un resultado de 169.733 mg QE/100 g de extracto liofilizado y al relacionarlo con una investigación realizada por Soto, Marilú (2015) con el Matico (*Piper aduncum* L.) el mismo que presenta un valor 2.51mg EQ/100g de hoja desecada, podemos observar que la investigación con el Matico (*Eupatorium glutinosum*), arroja un valor superior al realizado con el Matico (*Piper aduncum* L.). (Soto, 2015, p. 138)

Al igual que en el contenido de fenoles totales, los flavonoides totales dependen de factores tales como: especie, climáticos, temporada de recolección, métodos de extracción, etc, los cuales inciden en los resultados obtenidos. (Alimpić et al., 2017, p. 4) (Duletić et al., 2018, pp. 103–104)

Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en Salvias, estando presentes en su mayoría como flavonas (apigenina, luteolina y sus correspondientes derivados 6-hidroxilados), flavonoles (principalmente kaempferol y quercetina metil éteres) y flavonol glucósidos. (Farhat et al., 2015, pp. 3–4)

### 3.7. Ensayo de la actividad antioxidante

Se utilizó el programa BLeSq para calcular las concentraciones IC<sub>50</sub>.

**Tabla 8-3:** Resultados del IC<sub>50</sub>

MUESTRAS	RESULTADO IC <sub>50</sub>
Ácido gálico	23.27 µg/mL
Matico ( <i>Eupatorium glutinosum</i> )	1059.61 µg/mL
Salvia real ( <i>Salvia sagittata</i> )	1247.32 µg/mL

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

En la Tabla 8-3 se observa que tanto el extracto de *Eupatorium glutinosum* como el extracto de *Salvia sagittata* presentan una baja actividad antioxidante con respecto a la solución estándar de ácido gálico, ya que menciona que mientras menor es el IC<sub>50</sub>, mayor es el poder antioxidante. (Hamdy et al., 2013, p. 830)

Kamatou y colaboradores (2010) clasificaron varias especies de Salvia en: buena actividad antioxidante (IC<sub>50</sub> <30 µg/mL), moderada (30 <IC<sub>50</sub> <80 µg/mL) y baja (IC<sub>50</sub> > 80 µg/mL) utilizando el ensayo DPPH. Por lo tanto el extracto liofilizado de *Salvia sagittata* presenta una baja actividad de eliminación de radicales libres. (Kamatou et al., 2010, p. 687)

Farhat et al. (2013) realizaron un estudio sobre Caracterización y cuantificación de compuestos fenólicos y propiedades antioxidantes de especies de *Salvia* que crecen en diferentes hábitats, en donde *S. officinalis* obtuvo un valor de  $IC_{50}$  3.37  $\mu\text{g/mL}$ , siendo este resultado menor con respecto al extracto de *Salvia sagittata*, mostrando una mayor actividad antioxidante en *S. officinalis* que en el extracto de *Salvia sagittata*. (Farhat et al., 2013, p. 912)

En la investigación descrita anteriormente por Alimpić y colaboradores (2017) *Salvia amplexicaulis* en los extractos de metanol y agua mostró valores  $IC_{50}$  de 15.1 y 15.8  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, es así que al compararlo con el extracto liofilizado de *Salvia sagittata* este último presenta una baja actividad antioxidante. (Alimpić et al., 2017, p. 5)

En lo referente al Matico (*Eupatorium glutinosum*) dio un valor de  $IC_{50}$  1059.61  $\mu\text{g/mL}$  que al compararlo con la investigación realizada por Rugel, Anabel (2017) presentó una baja actividad antioxidante. (Rugel, 2017, p. 52)

Los resultados obtenidos van a depender de la complejidad química de los extractos de plantas, la polaridad, los diferentes grupos funcionales, etc. (Sarrou et al., 2016, p. 248)

Las propiedades antioxidantes de *Salvia* se atribuyen esencialmente a los diterpenoides (ácido carnósico y carnosol) y derivados del ácido cafeico (ácido rosmarínico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido clorogénico, etc.). (Farhat et al., 2013, p. 912) El ácido cafeico, el ácido rosmarínico, el ácido ursólico, el ácido oleanólico, el ácido carnósico y el carnosol son comunes en muchas plantas y todos son fuertes secuestradores de radicales. (Kamatou et al., 2010, p. 687)

Los compuestos fenólicos vegetales son los antioxidantes y eliminadores de radicales libres altamente efectivos. Por lo tanto la actividad antioxidante de los polifenoles está relacionada con sus estructuras químicas, particularmente con su grupo hidroxilo y la presencia de un segundo grupo hidroxilo en la posición orto o para para aumentar la eficacia de antioxidantes como el ácido rosmarínico, carnosol y ácido carnósico. (Farhat et al., 2013, p. 912) Mientras que los flavonoides tienen una actividad de eliminación de DPPH relativamente débil y se ha informado que la glicosilación disminuye la actividad de eliminación de radicales. (Kosar et al., 2011, p. 378)

### 3.8. Control microbiológico

**Tabla 9-3:** Control microbiológico de los geles de *Salvia sagittata*

PARÁMETROS	RESULTADOS			LÍMITES DE REFERENCIA USP 35
	<i>Salvia sagittata</i> a 25 ppm	<i>Salvia sagittata</i> a 100 ppm	<i>Salvia sagittata</i> a 300 ppm	
<b>Aerobios mesófilos</b>	35 UFC/mL	22 UFC/mL	10 UFC/mL	< 100 UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausente
<b>Mohos y Levaduras</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	< 10 UFC/mL

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

En la Tabla 9-3 se observa que los geles se encuentran dentro de los límites establecidos por la USP 35, lo que nos asegura que no tendremos ninguna consecuencia posterior al ser aplicados en las heridas de los ratones.

Los aerobios mesófilos nos dan una indicación de que el ambiente del trabajo, los recipientes para el almacenamiento y la manipulación son los más aptos. La ausencia de *Escherichia coli* es un indicativo de que el gel no está contaminado con materia fecal y finalmente la ausencia de mohos y levaduras nos indica que el gel va a tener una estabilidad adecuada al no presentar un crecimiento fúngico.

### 3.9. Determinación de la actividad cicatrizante

La determinación de la actividad cicatrizante del extracto liofilizado de las hojas de *Salvia sagittata* fueron elaborados mediante la forma farmacéutica de gel y se aplicó cada 12 horas por vía tópica hasta que se cicatrice la herida por completo, dando como resuelto longitud, ancho y tiempo de cicatrización de las heridas.

**Tabla 10-3:** Promedio de las longitudes de las heridas (cm) en ratones (*Mus musculus*)

DÍAS	Control (-) BLANCO	Control (+)		Gel de extracto de <i>Salvia sagittata</i> 25 ppm	Gel de extracto de <i>Salvia sagittata</i> 100 ppm	Gel de extracto de <i>Salvia sagittata</i> 300 ppm
		MEDICAMENTO (Ungüento Dérmico Antibiótico)	Gel de extracto de Matico 200 ppm			
1	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
2	1.4	1.4	1.4	1.3	1.4	1.2
3	1.2	1.3	1.2	1.1	1.2	1.0
4	1.1	1.2	1.1	1.1	1.0	0.8
5	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	0.7
6	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.5
7	0.8	0.7	0.7	0.7	0.6	0.4
8	0.7	0.6	0.6	0.7	0.4	0.1
9	0.6	0.4	0.5	0.6	0.3	0
10	0.6	0.3	0.5	0.5	0.1	
11	0.5	0.2	0.4	0.4	0	
12	0.4	0	0.2	0.3		
13	0.4		0	0.3		
14	0.3			0.1		
15	0.1			0		
16	0					

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

La Tabla 10-3 indica los resultados de las mediciones de las heridas registradas diariamente, la misma nos muestra que el gel de *Salvia sagittata* a concentración de 300 ppm es el más efectivo, ya que la cicatrización se dio en nueve días, luego tenemos el gel a concentración de 100 ppm el mismo que cicatrizó las heridas en un período de 11 días, se presume por la presencia de taninos, compuestos fenólicos, flavonoides y aceites esenciales, los mismos que contribuyen a una mejor cicatrización.

El medicamento Ungüento dérmico antibiótico actúa directamente en heridas leves originadas por gérmenes sensibles y tuvo su período de cicatrización en 12 días. En lo referente al Matico el período de cicatrización fue de 13 días, podemos observar que hay una diferencia de cuatro días entre la *Salvia* real a concentración de 300 ppm.

El gel elaborado a base de matico (*Eupatorium glutinosum*) a concentración de 200 ppm tiene un período de cicatrización de 13 días, mientras que la tintura elaborada a base de matico realizado por Casignia, María (2015) presentó un período de cicatrización de 14 días; de donde

podemos deducir que el tiempo de cicatrización no tiene una variación muy grande. (Casignia, 2015, p. 48)

Finalmente, tenemos que el control negativo (blanco) se refiere a que no se aplicó ningún tipo de tratamiento en las heridas, por lo que la cicatrización se demoró un tiempo de 16 días en curarse las heridas.

**Tabla 11-3:** Promedio del ancho de las heridas (mm) en ratones (*Mus musculus*)

DÍAS	Control (-) BLANCO	Control (+)		Gel de extracto de <i>Salvia sagittata</i> 25 ppm	Gel de extracto de <i>Salvia sagittata</i> 100 ppm	Gel de extracto de <i>Salvia sagittata</i> 300 ppm
		MEDICAMENTO (Ungüento Dérmico Antibiótico)	Gel de extracto de Matico 200 ppm			
1	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4
3	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3
4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
5	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2
6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2
7	0.3	0.2	0.3	0.2	0.1	0.2
8	0.2	0.2	0.3	0.2	0.1	0.1
9	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	0
10	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	
11	0.1	0.1	0.1	0.2	0	
12	0.1	0	0.1	0.1		
13	0.1		0	0.1		
14	0.1			0.1		
15	0.1			0		
16	0					

**Realizado por:** Sandra Díaz, 2018

La Tabla 11-3 muestra los períodos de cicatrización del ancho de las heridas al aplicar los diferentes tratamientos; evidentemente los tiempos de cierre de las heridas van en concordancia con los períodos de cierre de las longitudes de las mismas, demostrando que el tratamiento más efectivo fue el gel de *Salvia sagittata* a concentración de 300 ppm.

**Tabla 12-3:** Tiempo de cicatrización de las heridas (días)

GRUPOS	R1	R2	R3	R4	R5	R6	PROMEDIO
Gel de <i>Salvia sagittata</i> 300 ppm	8	9	8	9	9	8	8.50 ± 0.55
Gel de <i>Salvia sagittata</i> 100 ppm	10	11	10	11	11	10	10.50 ± 0.55
Medicamento	12	12	11	12	13	12	12.00 ± 0.63
Gel de <i>Eupatorium glutinosum</i> 200 ppm	14	13	12	13	14	14	13.33 ± 0.82
Gel de <i>Salvia sagittata</i> 25 ppm	16	15	14	16	14	16	15.17 ± 0.98
Blanco	15	17	16	15	17	15	15.83 ± 0.98

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

La Tabla 12-3 indica el tiempo de cicatrización de las lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*) siendo el más efectivo el Gel de *Salvia sagittata* a concentración de 300 ppm con un período de 8.50 días, en segundo lugar tenemos el Gel de *Salvia sagittata* a concentración de 100 ppm con un tiempo de 10.50 días, en tercer lugar está el Medicamento (Ungüento dérmico antibiótico) que demoró 12 días, en cuarto lugar se encuentra el Gel de Matico (*Eupatorium glutinosum*) a concentración de 200 ppm con 13.33 días, en quinto lugar le sigue el Gel de *Salvia sagittata* a concentración de 25 ppm con 15.17 días y finalmente tenemos el blanco (sin tratamiento) que tardó en cicatrizar en 15.83 días, de lo cual podemos concluir que los compuestos identificados en las Tablas 2-3, 4-3 y 5-3 posiblemente influyen directamente en el período de cicatrización.

La investigación de sustancias bioactivas de plantas ha demostrado que presentan ventajas excepcionales en términos de curación rápida. Estos componentes fitoquímicos bioactivos incluyen: alcaloides, aceites esenciales, flavonoides, taninos, terpenoides, saponinas y compuestos fenólicos, que demuestran una amplia gama de actividades: antiinflamatoria, antibacteriana, antimicrobiana y antioxidante. (Jarić et al., 2018, pp. 7–8)

Los taninos promueven la curación de heridas a través de varios mecanismos celulares, incluyendo la eliminación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, promoviendo la contracción de la herida y la angiogénesis. Gracias a sus propiedades astringentes y antibacterianas, los taninos pueden usarse como medicamento en el tratamiento de úlceras y heridas cutáneas. De forma similar, los ácidos tánicos demuestran actividad antimicrobiana contra los patógenos. (Jarić et al., 2018, pp. 7–8)



Los terpenoides, los triterpenoides y los flavonoides promueven el proceso de cicatrización. Los terpenoides fomentan este proceso, principalmente debido a su actividad astringente y antimicrobiana, que parece ser responsable de la contracción de la herida y una mayor tasa de epitelización. (Jarić et al., 2018, pp. 7–8)

Los flavonoides también poseen potentes propiedades antioxidantes y de eliminación de radicales libres y aumentan los niveles de enzimas antioxidantes en el tejido de granuloma. De forma similar, los esteroides y polifenoles también son responsables de la cicatrización de heridas. (Jarić et al., 2018, pp. 7–8)

### 3.10. Análisis estadístico

En el análisis estadístico se empleó el programa estadístico SPSS 21 en donde se realizó el test de Anova de un factor y test de Tukey, cuyo objetivo fue el de hallar diferencias estadísticas entre los distintos tratamientos experimentales y los grupos controles.

**Tabla 13-3:** Análisis de Anova de un factor según el tiempo de cicatrización de las heridas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Inter-grupos</b>	234,889	5	46,978	78,296	,000
<b>Intra-grupos</b>	18,000	30	,600		
<b>Total</b>	252,889	35			

Realizado por: Sandra Díaz, 2018

En la Tabla 13-3 se muestran los resultados analizados mediante el test de Anova de un factor, donde podemos observar que existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos experimentales con p-valor de 0.00, el mismo que es menor al nivel de significancia de 0.05%; debido a esto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa que indica que si existe diferencia significativa en el tiempo de cicatrización de los grupos experimentales.

**Tabla 14-3:** Análisis estadístico de Tukey según el tiempo de cicatrización de las heridas

Tiempo Cicatrización	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Gel <i>Salvia sagittata</i> 300 ppm	6	8,5000			
Gel <i>Salvia sagittata</i> 100 ppm	6		10,5000		
Medicamento	6			12,0000	
Gel Matico 200 ppm	6			13,3333	
Gel <i>Salvia sagittata</i> 25 ppm	6				15,1667
Blanco	6				15,8333

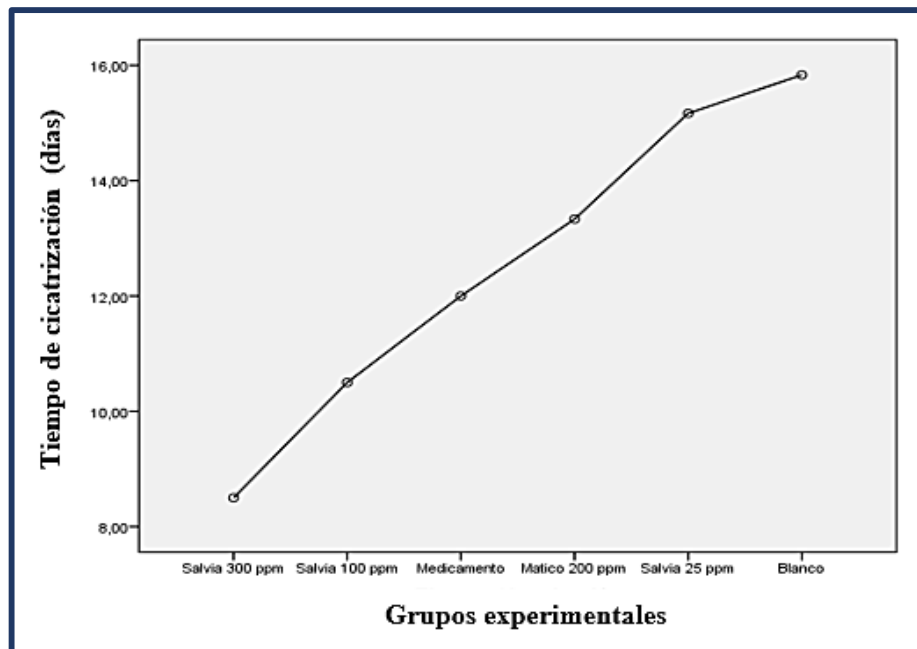
Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000.

**Realizado por:** Sandra Díaz, 2018

La Tabla 14-3 muestra la prueba de subconjuntos de grupos de Tukey, en la cual podemos observar que el Gel de *Salvia sagittata* a concentraciones de 300 y 100 ppm presentan un mayor efecto cicatrizante, debido a que sus medias no son estadísticamente iguales.

En el subconjunto 3 (Medicamento y Gel de Matico a concentración de 200 ppm) y el subconjunto 4 (Gel de *Salvia sagittata* a concentración de 25 ppm y Blanco) sus medias son iguales, es decir, que no presentan diferencias significativas entre los grupos analizados.



**Gráfico 1-3:** Tiempo de cicatrización en los diferentes grupos experimentales

**Realizado por:** Sandra Díaz, 2018

El gráfico 1-3 presenta el tiempo (días) en que se cicatrizó las heridas de acuerdo al tratamiento empleado. En este gráfico tenemos que en el eje de las X (abscisas) están ubicados los tratamientos y en el eje de la Y (ordenadas) representa el tiempo en que tardó en curarse la herida, de donde podemos deducir que el tratamiento que mejor resultado dio es el gel de *Salvia sagittata* a concentración de 300 ppm, el tiempo que tardó en cicatrizar la herida fue de nueve días.

### 3.11. Examen histopatológico

**Tabla 15-3:** Examen histopatológico de la piel de los ratones (*Mus musculus*)

GRUPOS	FIBROSIS	CONGESTIÓN VASCULAR	EDEMA	PMN	MMN
Blanco	(+)	(+)	(++)	(+)	(-)
Medicamento (Ungüento dérmico antibiótico)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
Gel de extracto matico 200 ppm	(+)	(+)	(++)	(-)	(+)
Gel de extracto de <i>Salvia sagittata</i> 25 ppm	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
Gel de extracto de <i>Salvia sagittata</i> 100 ppm	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Gel de extracto de <i>Salvia sagittata</i> 300 ppm	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)

**Interpretación:** Polimorfonucleares (PMN); Monomorfonucleares (MMN); (-) No se observa; (+) Baja; (++) Moderada; (+++) Alta  
**Realizado por:** Sandra Díaz, 2018

En la Tabla 15-3 se observan los resultados del examen histopatológico de la piel de los ratones, en la cual determinamos que existe la presencia de fibrosis en todos los grupos experimentales debido a que en la herida se produce un incremento del tejido conectivo como consecuencia del proceso de reparación del tejido lesionado. (Asto, 2015, p. 56)

Referente a la congestión vascular y edema se deduce que los dos van en concordancia, corroborando con lo que se muestra en la Tabla 15-3, ya que al existir congestión vascular se produce una acumulación excesiva de sangre en los vasos venosos, originando una trasudación del líquido al espacio intersticial de los tejidos dando como resultado la aparición del edema. (Villalba y Vildoza, 2014, p. 2283)

Las infecciones agudas y crónicas se producen por la presencia de monomorfonucleares y polimorfonucleares respectivamente, en nuestro caso las infecciones agudas tenemos en:

Blanco, medicamento y gel de *Salvia sagittata* a 25 ppm; mientras que la infección crónica apareció solamente en el gel de Matico a 200 ppm haciendo que se demore en cicatrizar las heridas por más tiempo. (Asto, 2015, p. 56)

Por lo que podemos concluir que hubo una mejor cicatrización con los geles de extracto de *Salvia sagittata* a concentraciones de 100 y 300 ppm ya que no presentaron edema, congestión vascular ni infecciones agudas y crónicas.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el control de calidad de la muestra seca (*Salvia sagittata*) indican que están dentro de los valores de referencia establecidos por la Real Farmacopea Española 2002. A su vez los valores obtenidos en el control de calidad del extracto hidroalcohólico (70%), indican que cumplen parámetros de calidad utilizadas en la investigación.

En el tamizaje fitoquímico (extracto etéreo, alcohólico y acuoso) de las hojas de *Salvia sagittata* se determinó la presencia de: aceites y grasas, alcaloides, triterpenos, esteroides, resinas, saponinas, fenoles, taninos, flavonoides y principios amargos.

A través de la técnica de cromatografía en capa fina (TLC) y en referencia a los cálculos de Rf (Factor de retención) obtenidos, se determinó la posible presencia de compuestos fenólicos como: ácido clorogénico, quercetina, ácido cafeico y ácido ferúlico y en aceites esenciales la presencia de compuestos como: acetato de bornilo, alcoholes terpénicos, 1,8-cineol y timol.

Se cuantificó compuestos fenólicos mediante el método de Folin-Ciocalteu y flavonoides totales mediante técnica colorimétrica de cloruro de aluminio por espectrofotometría, presentes en extracto liofilizado de las hojas de *Salvia sagittata*, obteniendo un valor en porcentaje de  $8.439 \pm 0.096$  y  $1.670 \pm 0.010$  respectivamente. Los valores obtenidos en ambos casos están relacionados con la cantidad presente de fenoles y flavonoides totales posiblemente responsables de ejercer actividad cicatrizante en la planta en estudio.

En la determinación del proceso de cicatrización mediante método de heridas inducidas en especie *Mus musculus*, utilizando el programa estadístico SPSS, se concluye que el gel de extracto de *Salvia sagittata* a concentración de 300 ppm presentó un mayor efecto cicatrizante debido a que se cicatrizó en 9 días para el efecto terapéutico. Resultados que fueron confirmados por el examen histopatológico realizado.

## RECOMENDACIONES

Realizar un análisis de otras partes de la planta *Salvia sagittata* tal como raíz y tallos para conocer cual presenta la mayor actividad cicatrizante.

Emplear otros métodos de extracción para determinar con cuál de ellos se obtiene un mayor porcentaje de metabolitos para que su efecto cicatrizante sea el mayor posible.

Efectuar un ensayo de toxicidad de la planta *Salvia sagittata* para determinar los efectos secundarios en las personas que lo usan.

## BIBLIOGRAFÍA

**ACOSTA, A.** El fibroblasto: su origen, estructura, funciones y heterogeneidad dentro del periodonto. *Universitas Odontológica* [en línea], 2006, vol. 25, no. 57, pp. 27-28. [Consulta: 25 abril 2018]. ISSN 0120-4319. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=231220955005>.

**ALIMPIĆ, A., KNEŽEVIĆ, A., MILUTINOVIĆ, M., STEVIĆ, T., ŠAVIKIN, K., STAJIĆ, M., MARKOVIĆ, S., MARIN, P.D., MATEVSKI, V. y DULETIĆ, S.** Biological activities and chemical composition of *Salvia amplexicaulis* Lam. extracts. *Industrial Crops and Products* [en línea], 2017, vol. 105, pp. 4-5. [Consulta: 24 mayo 2018]. ISSN 0926-6690. DOI 10.1016/j.indcrop.2017.04.051. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669017302819>.

**ARRIBAS, J.M., CASTELLÓ, J.R., RODRÍGUEZ, N. y SÁNCHEZ, A.** Cirugía menor en heridas (laceraciones). Heridas en cara y manos. *Semergen - Medicina de Familia* [en línea], 2002, vol. 28, no. 5, pp. 249. [Consulta: 28 abril 2018]. ISSN 1138-3593. DOI 10.1016/S1138-3593(02)74066-5. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1138359302740665>.

**ASTO, S.** Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos de hojas de llantén de páramo (*Plántago australis*) en lesiones, inducidas en ratones (*Mus musculus*) [en línea] (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Ecuador. 2015. pp. 11-56. [Consulta: 27 abril 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4561/1/56T00582%20UDCTFC.pdf>.

**AZCOITIA, I.** Desarrollo y evaluación preclínica de un nuevo apósito con actividad antioxidante para el tratamiento de heridas cutáneas [en línea] (Tesis). Universidad del País Vasco. España. 2016. pp. 6. [Consulta: 2 mayo 2018]. Disponible en: [https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/18926/TESIS\\_AZCOITIA\\_RAMSDEN\\_IKER.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/18926/TESIS_AZCOITIA_RAMSDEN_IKER.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**BADÍA, M.A. y GARCÍA, E.** Análisis estético [en línea]. Madrid. España: Editorial Paraninfo, 2013, pp. 8-12. [Consulta: 21 abril 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=GJQnm01159IC>.

**BAHADORI, M., VALIZADEH, H., ASGHARI, B., DINPARAST, L., FARIMANI, M. y BAHADORI, S.** Chemical composition and antimicrobial, cytotoxicity, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Salvia spinosa* L. *Journal of Functional Foods* [en línea], 2015, vol. 18, pp. 731. [Consulta: 21 abril 2018]. ISSN 1756-4646. DOI 10.1016/j.jff.2015.09.011. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615004284>.

**BAZARRAGCHAA, B., MYOUNG, L.S. y YUON, L.H.** Pollen Morphology of the Family Lamiaceae in Mongolia. *Journal of Korean Nature* [en línea], 2012, vol. 5, no. 2, pp. 169. [Consulta: 17 abril 2018]. ISSN 1976-8648. DOI 10.7229/jkn.2012.5.2.169. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S197686481460102X>.

**BIELSA, I.** Proceso de cicatrización de las heridas. *Piel* [en línea], 2006, vol. 21, no. 4, pp. 207. [Consulta: 07 abril 2018]. ISSN 0213-9251. DOI 10.1016/S0213-9251(06)72470-4. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213925106724704>.

**CABEZAS, G.** Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) en ratones (*Mus musculus*) [en línea] (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Ecuador. 2014. pp. 29. [Consulta: 9 mayo 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3737/1/56T00480%20UDCTFC.pdf>.

**CALERO, G. y OLLAGUE, J.** Dermatología Práctica Actualización y Experiencia Docente. 2ª ed. Quito. Ecuador: Interpharm, 2007. pp. 20.

**CASIGNIA, M.** Comparación del efecto cicatrizante de las tinturas elaboradas a base de matico (*Eupatorium glutinosum*) y acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*) aplicados en ratones (*Mus musculus*) [en línea] (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Ecuador. 2015. pp. 48. [Consulta: 05 junio 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3998/1/56T00524%20UDCTFC.pdf>.



**CONCHA, M., ANDRIGHETTI, C. y CURI, M.** Actualización en técnica aséptica y uso de antibióticos profilácticos en procedimientos quirúrgicos ambulatorios que comprometan piel y mucosas. *Rev Med Chile* [en línea], 2016, vol. 144, pp. 1039. [Consulta: 29 abril 2018]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v144n8/art11.pdf>.

**DORJSEMBE, B., LEE, H., KIM, M., DULAMJAV, B., JIGJID, T. y WON, C.** *Achillea asiatica* extract and its active compounds induce cutaneous wound healing. *Journal of Ethnopharmacology* [en línea], 2017, vol. 206, pp. 4-5. [Consulta: 26 mayo 2018]. ISSN 0378-8741. DOI 10.1016/j.jep.2017.06.006. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874117314447>.

**DULETIĆ, S., ALIMPIĆ, A., ŠAVIKIN, K., KNEŽEVIĆ, A., MILUTINOVIĆ, M., STEVIĆ, T., VUKOJEVIĆ, J., MARKOVIĆ, S. y MARIN, P.D.** Composition and biological activities of Libyan *Salvia fruticosa* Mill. and *S. lanigera* Poir. extracts. *South African Journal of Botany* [en línea], 2018, vol. 117, pp. 103-104. [Consulta: 24 mayo 2018]. ISSN 0254-6299. DOI 10.1016/j.sajb.2018.05.013. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629917305537>.

**DWIVEDI, D., DWIVEDI, M., MALVIYA, S. y SINGH, V.** Evaluation of wound healing, anti-microbial and antioxidant potential of *Pongamia pinnata* in wistar rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* [en línea], 2017, vol. 7, no. 1, pp. 80. [Consulta: 7 mayo 2018]. ISSN 2225-4110. DOI 10.1016/j.jtcme.2015.12.002. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2225411015001182>.

**ESTEVA, E.** El tratamiento de las heridas. *Offarm*, [en línea], 2006, vol. 25, no. 8, pp. 54-58. [Consulta: 26 abril 2018]. ISSN 0212-047X. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-tratamiento-las-heridas-13094127>.

**FARHAT, M., JORDÁN, M., CHAOUCH, R., LANDOULSI, A. y SOTOMAYOR, J.A.** Changes in phenolic profiling and antioxidant capacity of *Salvia aegyptiaca* L. by-products during three phenological stages. *LWT - Food Science and Technology* [en línea], 2015, vol. 63, no. 1, pp. 3-4. [Consulta: 25 mayo 2018]. ISSN 0023-6438. DOI 10.1016/j.lwt.2015.03.015. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815001553>.

**FARHAT, M., LANDOULSI, A., CHAOUCH, R., SOTOMAYOR, J.A. y JORDÁN, M.J.** Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia*

*species* growing in different habitats. *Industrial Crops and Products* [en línea], 2013, vol. 49, pp. 912. [Consulta: 28 mayo 2018]. ISSN 0926-6690. DOI 10.1016/j.indcrop.2013.06.047. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013003464>.

**FELZANI, R.** Cicatrización de los tejidos con interés en cirugía bucal: revisión de la literatura. *Acta Odontológica Venezolana* [en línea], 2005, vol. 43, no. 3. [Consulta: 1 mayo 2018]. ISSN 0001-6365. Disponible en: [http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0001-63652005000300018&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0001-63652005000300018&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

**FERNÁNDEZ, J.L. y RIVERA, O.** Las labiadas (Familia Labiatae) [en línea]. Bogotá. Colombia: s.n. 2006. pp. 387-389. [Consulta: 7 mayo 2018]. Disponible en: [http://digital.csic.es/bitstream/10261/34119/1/2006\\_Fernandez-Alonso\\_Libro-Rojo.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/34119/1/2006_Fernandez-Alonso_Libro-Rojo.pdf).

**FERNÁNDEZ, L., MUÑOZ, V., FORNES, B. y GARCIA, M.** La Cicatrización de las Heridas. *Enfermería Dermatológica* [en línea], 2008, no. 3, pp. 14-15. [Consulta: 7 mayo 2018]. Disponible en: <http://anedidic.com/descargas/formacion-dermatologica/03/la-cicatrizacion-de-las-heridas.pdf>.

**FITZPATRICK, T.B.** Dermatología En Medicina General [en línea]. Buenos Aires. Argentina: Ed. Médica Panamericana, 2009, pp. 57. [Consulta: 16 abril 2018]. Disponible en: [www.medicapanamericana.com/derma/fitzpatrick](http://www.medicapanamericana.com/derma/fitzpatrick).

**FRANCO, S., HERNÁNDEZ, E., PALMEIRO, A., MONFÁ, J.M., OVIEDO, V., SOUSA PÉREZ, F., MARTÍN GAGO, J., SÁNCHEZ GARCÍA, L., MARTÍN ESCUER, P. y ARRANZ ARIJA, F.** Carcinoma de células de Merkel en un paciente con trasplante renal. *Diálisis y Trasplante* [en línea], 2010, vol. 31, no. 4, pp. 128. [Consulta: 20 abril 2018]. ISSN 18862845. DOI 10.1016/j.dialis.2010.06.003. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1886284510000846>.

**FUENTES, F. de M., MENDOZA, R., ROSALES, A. y CISNEROS, R.** Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón [en línea]. Lima. Perú: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2008, pp. 8-12. [Consulta: 9 mayo 2018]. Disponible en: [http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA\\_ANIMALES\\_RATON.pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA_ANIMALES_RATON.pdf).

**GHORBANI, A. y ESMAELIZADEH, M.** Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* [en línea], 2017. vol. 7, no. 4, pp. 1-6. [Consulta: 6 mayo 2018]. ISSN 2225-4110. DOI 10.1016/j.jtcme.2016.12.014. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2225411017300056>.

**GONZÁLEZ, F.G., GAGO, M., CHUMILLA, S. y GAZTELU, V.** Abordaje de enfermería en heridas de urgencias. *Gerokomos* [en línea], 2013, vol. 24, no. 3, pp. 133-135. [Consulta: 15 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.gerokomos.com/wp-content/uploads/2014/12/24-3-2013-132-helcos.pdf>.

**GUAMÁN, F.** Determinación y comparación de la actividad antibacteriana in vitro de extractos de dos especies de ortiga sobre bacterias de importancia clínica [en línea] (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Ecuador. 2015. pp. 16-42. [Consulta: 4 mayo 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4575/1/56T00590%20UDCTFC.pdf>.

**GUAYCHA, N., JARAMILLO, C., CUENCA, S., TOCTO, J. y MÁRQUEZ, I.** Estudios farmacognósticos y toxicológicos preliminares de hojas, tallo y raíz de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). *Ciencia Unemi* [en línea], 2017, vol. 10, no. 22, pp. 64-65. [Consulta: 19 mayo 2018]. ISSN 2528-7737. Disponible en: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/459>.

**GUFFANTTE, I.** Screening de actividad antioxidante y citotóxica en *Artemia salina* de: *Arcythophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii* [en línea] (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Ecuador. 2013. pp. 13-17. [Consulta: 4 mayo 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2559/1/56T00326.pdf>.

**GUTIÉRREZ, M.I., VILLEGAS, M.E., LÓPEZ, L., ARESTÉ, N., MORATÓ, M.L. y PÉREZ, S.** Uso de los antisépticos en atención primaria. *Atención Primaria* [en línea], 2014, vol. 46, no. 2, pp. 11-14. [Consulta: 21 abril 2018]. ISSN 0212-6567. DOI 10.1016/S0212-6567(14)70056-3. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0212656714700563>.

**HAMDY, M., SARHAN, M., HAMED, K. y KHALEL, K.** Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products* [en línea], 2013, vol. 43, pp. 829-830. [Consulta: 23 mayo 2018]. ISSN 0926-6690. DOI 10.1016/j.indcrop.2012.08.029. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669012004992>.

**HIDALGO, O.** Determinación del efecto cicatrizante del extracto acuotánico de la planta *Bacopa procumbens* en la línea celular 3t3 de fibroblastos de ratón [en línea] (Tesis). Instituto Politécnico Nacional. México. 2010. pp. 1. [Consulta: 17 abril 2018]. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/7502/DETEREFECTO.pdf?sequence=1>.

**HOUGHTON, P.J., HYLANDS, P.J., MENSAH, A.Y., HENSEL, A. y DETERS, A.M.** In vitro tests and ethnopharmacological investigations: Wound healing as an example. *Journal of Ethnopharmacology* [en línea], 2005, vol. 100, no. 1, pp. 104. [Consulta: 5 mayo 2018]. ISSN 0378-8741. DOI 10.1016/j.jep.2005.07.001. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874105004320>.

**JARIĆ, S., KOSTIĆ, O., MATARUGA, Z., PAVLOVIĆ, D., PAVLOVIĆ, M., MITROVIĆ, M. y PAVLOVIĆ, P.** Traditional wound-healing plants used in the Balkan region (Southeast Europe). *Journal of Ethnopharmacology* [en línea], 2018, vol. 211, pp. 2-8. [Consulta: 19 mayo 2018]. ISSN 0378-8741. DOI 10.1016/j.jep.2017.09.018. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874117321852>.

**JIMÉNEZ, C.** Curación avanzada de heridas. *Revista Colombiana de Cirugía* [en línea], 2008, vol. 23, no. 3, pp. 149. [Consulta: 28 abril 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcci/v23n3/v23n3a4.pdf>.

**KAMATOU, G., VILJOEN, A. y STEENKAMP, P.** Antioxidant, antiinflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species. *Food Chemistry* [en línea], 2010, vol. 119, no. 2, pp. 687. [Consulta: 28 mayo 2018]. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2009.07.010. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609008905>.

**KAMATOU, G.P.P., MAKUNGA, N.P., RAMOGOLA, W.P.N. y VILJOEN, A.M.** South African *Salvia* species: A review of biological activities and phytochemistry. *Journal of*

*Ethnopharmacology* [en línea], 2008, vol. 119, no. 3, pp. 665. [Consulta: 7 mayo 2018]. ISSN 0378-8741. DOI 10.1016/j.jep.2008.06.030. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874108003498>.

**KARABIN, M., HUDCOVA, T., JELINEK, L. y DOSTALEK, P.** Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotechnology Advances* [en línea], 2015, vol. 33, no. 6, pp. 5. [Consulta: 6 mayo 2018]. ISSN 0734-9750. DOI 10.1016/j.biotechadv.2015.02.009. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975015000348>.

**KOSAR, M., GÖGER, F. y CAN, K.** In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia halophila* Hedge from Turkey. *Food Chemistry* [en línea], 2011, vol. 129, no. 2, pp. 378. [Consulta: 28 mayo 2018]. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2011.04.086. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611006522>.

**LI, M., LI, Q., ZHANG, C., ZHANG, N., CUI, Z., HUANG, L. y XIAO, P.** An ethnopharmacological investigation of medicinal *Salvia* plants (Lamiaceae) in China. *Acta Pharmaceutica Sinica B* [en línea], 2013, vol. 3, no. 4, pp. 274. [Consulta: 7 mayo 2018]. DOI 10.1016/j.apsb.2013.06.001. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211383513000440>.

**LOPRESTI, A.** *Salvia* (Sage): A Review of its Potential Cognitive-Enhancing and Protective Effects. *Drugs in R&D* [en línea], 2017, vol. 17, no. 1, pp. 54. [Consulta: 7 mayo 2018]. ISSN 1174-5886. DOI 10.1007/s40268-016-0157-5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5318325/>.

**MARIEB, E.** Atlas de anatomía humana [en línea]. 9ª ed. Madrid. España: Pearson Educación, 2008, pp. 116-117. [Consulta: 21 abril 2018]. Disponible en: <http://www.educacion-holistica.org/notepad/documentos/Medicina/Anatomia/Anatomia%20y%20Fisiologia%20Humana.pdf>.

**MARTÍNEZ, M., FRAGOSO, I., GARCÍA, M. del R. y MONTIEL, O.** Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. *Revista Mexicana de Biodiversidad* [en línea], 2013, vol. 84, no. 1, pp. 30. [Consulta: 6 mayo 2018]. ISSN 18703453. DOI 10.7550/rmb.30158. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1870345313728318>.

**MENDOZA, M. y MONSALVE, F.** Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de las hojas de *Salvia sagittata* “salvia azul” en cepas de *Sporothrix schenckii* [en línea] (Tesis). Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Cajamarca. Perú. 2017. pp. 44-45. [Consulta: 15 junio 2018]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/469/FYB-013-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**MICHUA, M.G. y RAMÍREZ, J.** Manejo de heridas crónicas con terapia de presión negativa ambulatoria por profesionales de enfermería en el servicio de clínica de heridas del H.G.R NO. 251” [en línea] (Tesis). UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO. Toluca. México. 2016. pp. 24. [Consulta: 27 abril 2018]. Disponible en: [http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/67972/MANEJO%20DE%20HERIDAS%20CRONICAS%20CON%20TERAPIA%20DE%20PRESION%20NEGATIVA%20\(TPN\)-split-merge.pdf?sequence=3](http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/67972/MANEJO%20DE%20HERIDAS%20CRONICAS%20CON%20TERAPIA%20DE%20PRESION%20NEGATIVA%20(TPN)-split-merge.pdf?sequence=3).

**MIRANDA, M.** Métodos de análisis de drogas y extractos [en línea]. La Habana. Cuba: Club Universitario, 2002, pp. 8-54. [Consulta: 11 mayo 2018]. Disponible en: <file:///C:/Users/Personal/Downloads/METODOS%20DE%20AN%C3%81LISIS%20DE%20ROGAS%20Y%20EXTRACTOS%20de%20Dra%20Migdalia%20Miranda%20Martinez.pdf>.

**MOJICA, A.** Actividad electrodérmica aplicada a la psicología: análisis bibliométrico. *Revista Mexicana de Neurociencia* [en línea], 2017, vol. 18, no. 4, pp. 48-49. [Consulta: 17 abril 2018]. ISSN 1665-5044. Disponible en: [http://revmexneuroci.com/wp-content/uploads/2017/09/RevMexNeuroci\\_2017\\_18\(4\)-46-56-\(R\).pdf](http://revmexneuroci.com/wp-content/uploads/2017/09/RevMexNeuroci_2017_18(4)-46-56-(R).pdf).

**MORENO, J., GALÁN, M. y JIMÉNEZ, R.** Tratamiento de las úlceras crónicas. *Actas Dermo-Sifiliográficas* [en línea], 2005, vol. 96, no. 3, pp. 135. [Consulta: 7 mayo 2018]. ISSN 0001-7310. DOI 10.1016/S0001-7310(05)73055-6. Disponible en: <http://www.actasdermo.org/es/tratamiento-las-ulceras-cronicas/articulo/13073610/>.

**MRAD DE OSORIO, A.** Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. *Revista Colombiana de Bioética* [en línea], 2006, vol. 1, no. 1, pp. 169. [Consulta: 10 mayo 2018]. ISSN 1900-6896. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1892/189217283010.pdf>.

**MUÑOZ, F.** Cuidados para la curación de heridas y quemaduras [en línea]. 2011. [Consulta: 8 mayo 2018]. Disponible en: [https://salud.asepeyo.es/wp-content/uploads/2011/09/591\\_Manual\\_Heridas%20y%20quemaduras.pdf](https://salud.asepeyo.es/wp-content/uploads/2011/09/591_Manual_Heridas%20y%20quemaduras.pdf).

**NAVARRETE, G.** Histología de la piel. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM* [en línea], 2003, vol. 46, no. 4, pp. 131. [Consulta: 24 abril 2018]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2003/un034d.pdf>.

**OLEAS, N., RÍOS, B., PEÑA, P. y BUSTAMANTE, M.R.** Plantas de las quebradas de Quito: guía práctica de identificación de plantas de ribera [en línea]. Quito. Ecuador: Ediecuatorial, 2016, pp. 101. [Consulta: 9 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.fonag.org.ec/web/imagenes/paginas/fondoeditorial/15.pdf>.

**ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional [en línea]. Ginebra. Suiza: Organización Mundial de la Salud, 2013, pp. 15. [Consulta: 12 junio 2018]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>.

**PADRÓ, L. y MARÍN, J.** Estandarización de los parámetros de calidad de la tintura de Itamo Real 20%. *Revista Cubana de Química* 2008 [en línea], vol. 20, no. 1, pp. 21. [Consulta: 20 mayo 2018]. ISSN 0258-5995. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/4435/443543713003.pdf>.

**PANIZZARDI, A., MARTÍN, C., LUNA, P., ABAD, M.E., SEGABACHE, M., GONZÁLEZ, V., SOLÉ, J., ROMERO, G., VIGOVICH, F., CASAS, J. y LARRALDE, M.** Alteraciones cutáneas secundarias a la disminución de las fibras elásticas dérmicas. *Rev Dermatología Argentina* [en línea], 2015, vol. 21, no. 2, pp. 127. [Consulta: 24 abril 2018]. Disponible en: <http://www.dermatolarg.org.ar/index.php/dermatolarg/article/viewFile/1396/794>.

**PASTOR, L. y JIMÉNEZ, A.** Reticulohistiocitosis congénita autoinvolutiva. *Piel* [en línea], 2006, vol. 21, no. 9, pp. 421. [Consulta: 25 abril 2018]. ISSN 0213-9251. DOI 10.1016/S0213-9251(06)72530-8. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213925106725308>.

**PAZMIÑO, F. y NAVARRETE, M.** Mecanismos inmunológicos implicados en la patología del asma alérgica. *Revista de la Facultad de Medicina* [en línea], 2014, vol. 62, no. 2, pp. 272.

[Consulta: 25 abril 2018]. ISSN 2357-3848, 0120-0011. DOI 10.15446/revfacmed.v62n2.45417. Disponible en: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/revfacmed/article/view/45417>.

**PEÑA, D.** Atlas de dermatología del pie [en línea]. Madrid. España: Ed. Médica Panamericana, 2007, pp. 17-18. [Consulta: 21 abril 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=Sji16aQ9XwUC>.

**PORRAS, A. y LÓPEZ, A.** Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* [en línea], 2009, vol. 3, no. 1, pp. 124. [Consulta: 9 mayo 2018]. Disponible en: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf).

**PRÓ, E.** Anatomía clínica [en línea]. 1a ed. Buenos Aires. Argentina: Médica Panamericana, 2012, pp. 18. [Consulta: 23 abril 2018]. Disponible en: <http://fhu.unse.edu.ar/carreras/obs/anatomo/proanatomiaclinica.pdf>.

**QUIÑONES, M., MIGUEL, M. y ALEIXANDRE, A.** Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria* [en línea], 2012, vol. 27, no. 1, pp. 78-79. [Consulta: 12 mayo 2018]. ISSN 0212-1611. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

**RAHMAN, N.F.A., SHAMSUDIN, R., ISMAIL, A., SHAH, N.N.A.K. y VARITH, J.** Effects of drying methods on total phenolic contents and antioxidant capacity of the pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) peels. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* [en línea], 2018, pp. 14. [Consulta: 12 mayo 2018]. ISSN 1466-8564. DOI 10.1016/j.ifset.2018.01.009. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856417300139>.

**RAMU, G., MOHAN, G.K., JAYAVEERA, K.N., DHANAPAL, S.P. y SENTHILKUMAR, G.** Preliminary phytochemical and antioxidant study of hydroalcoholic extracts from selected genera of Indian Lamiaceae. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* [en línea], 2012, vol. 2, no. 2, pp. 687-688. [Consulta: 18 mayo 2018]. ISSN 2221-1691. DOI 10.1016/S2221-1691(12)60296-2. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169112602962>.



**REIRIZ, J.** Tejidos, membranas, piel y derivados [en línea]. s.f. [Consulta: 18 abril 2018]. Disponible en: <https://www.infermeravirtual.com/files/media/file/95/Tejidos%2C%20membranas%2C%20piel%20y%20derivados.pdf?1358605871>.

**RODRÍGUEZ, M.P., BRIZUELA, A., MUÑOZ, A., LARA, A. y SÁENZ, A.M.** Queratinización: Fisiología cutánea [en línea], 2011, vol. 49, no. 4, pp. 8. [Consulta: 19 mayo 2018]. Disponible en: <http://svderma.org/revista/index.php/ojs/article/viewFile/2/2>.

**RODRÍGUEZ, N., MARTÍNEZ, L. y CAMPOS, N.** Tratamientos innovadores utilizados en el manejo de las heridas crónicas. *Revista Ciencia y Cuidado* 2017 [en línea], vol. 14, no. 2, pp. 83. [Consulta: 29 abril 2018]. ISSN 2322-7028, 1794-9831. DOI 10.22463/17949831.1112. Disponible en: <http://revistas.ufps.edu.co/ojs/index.php/cienciaycuidado/article/view/1112>.

**ROJAS, A.** Beneficios de la terapia de presión negativa asistida al vacío (VAC) en el manejo de heridas complejas que se presentan en pacientes del Hospital Docente de la Policía Nacional Guayaquil No. 2 desde septiembre 2016 hasta enero 2017 [en línea] (Tesis). Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Guayaquil. Ecuador. 2017. pp. 11. [Consulta: 27 abril 2018]. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/8017/1/T-UCSG-PRE-MED-538.pdf>.

**RUGEL, P.** Determinación de la actividad antiinflamatoria de la planta *Salvia quitensis* mediante inhibición de edema plantar inducido por carragenina en ratas *Rattus norvegicus* [en línea] (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Ecuador. 2017. pp. 22-52. [Consulta: 7 mayo 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6697/1/56T00710.pdf>.

**SALEM, C., PÉREZ, J.A., HENNING, E., UHEREK, F., SCHULTZ, C., BUTTE, J.M. y GONZÁLEZ, P.** Heridas: Conceptos generales. *Cuadernos de Cirugía* [en línea], 2000, vol. 14, no. 1, pp. 90-91. [Consulta: 30 abril 2018]. ISSN 07167040, 07182864. DOI 10.4206/cuad.cir.2000.v14n1-15. Disponible en: [http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-28642000000100015&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-28642000000100015&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

**SAN MARTÍN, Á.** Cura de Heridas Quirúrgicas. Protocolo de actuación [en línea] (Tesis). Universidad Pública de Navarra. Navarra. España. 2014. pp. 6. [Consulta: 5 mayo 2018].

Disponible en: <http://academica-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/11280/AguedaSanMartinLoyola.pdf?sequence=1>.

**SÁNCHEZ, E., PÉREZ, A., CHÁVEZ, D. y RODRÍGUEZ, C.** Caracterización farmacognóstica de *Salvia officinalis* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [en línea], 2005, vol. 10, no. 1. [Consulta: 19 mayo 2018]. ISSN 1028-4796. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1028-47962005000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1028-47962005000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

**SARROU, E., MARTENS, S. y CHATZOPOULOU, P.** Metabolite profiling and antioxidative activity of Sage (*Salvia fruticosa* Mill.) under the influence of genotype and harvesting period. *Industrial Crops and Products* [en línea], 2016, vol. 94, pp. 248. [Consulta: 26 mayo 2018]. ISSN 0926-6690. DOI 10.1016/j.indcrop.2016.08.022. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669016305350>.

**SENET, P.** Fisiología de la cicatrización cutánea. *EMC – Dermatología* [en línea], 2008, vol. 42, no. 1, pp. 7-8. [Consulta: 9 mayo 2018]. ISSN 1761-2896. DOI 10.1016/S1761-2896(08)70356-X. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S176128960870356X>.

**SERNA, J., VITALES, M., LÓPEZ, M.C. y MOLINA, A.** 1 Bases Fisiológicas. *Farmacía hospitalaria* [en línea], s.f. pp. 1. [Consulta: 18 abril 2018]. Disponible en: <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo2/CAP04.pdf>.

**SIERRA, R., GONZÁLEZ, V., MARRERO, D. y RODRÍGUEZ, E.** Análisis fitoquímico de la *Salvia coccinea* que crece en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [en línea], 2011, vol. 16, no. 1, pp. 57. [Consulta: 19 mayo 2018]. ISSN 1028-4796. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1028-47962011000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1028-47962011000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

**SINGH, S., YOUNG, A. y MCNAUGHT, C.** The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)* [en línea], 2017, vol. 35, no. 9, pp. 476. [Consulta: 19 mayo 2018]. ISSN 0263-9319. DOI 10.1016/j.mpsur.2017.06.004. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0263931917301369>.

**SOTO, M.** Estudio Fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedente de la región Amazonas. *UCV – SCIENTIA* [en línea], 2015, vol. 7, no. 2, pp. 138. [Consulta: 25 mayo 2018]. ISSN 2077-172X. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6181512>.

**SÜNTAR, I., AKKOL, E., NAHAR, L. y SARKER, S.** Wound healing and antioxidant properties: do they coexist in plants? *Free Radicals and Antioxidants SCIENTIA* [en línea], 2012, vol. 2, no. 2, pp. 2. [Consulta: 7 mayo 2018]. ISSN 2231-2536. DOI 10.5530/ax.2012.2.2.1. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2231253612220028>.

**SVARCH, E., ARTEAGA, R., PAVÓN, V. y GONZÁLEZ, A.** Las histiocitosis. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia* [en línea], 2001, vol. 17, no. 3, pp. 151. [Consulta: 25 abril 2018]. ISSN 0864-0289. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0864-02892001000300001&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-02892001000300001&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

**TÉLLEZ, A. y FRANCO, V.** Fisiología de la reparación de las heridas y dianas terapéuticas en la cicatrización anormal. *Piel* [en línea], 2017, vol. 32, no. 4, pp. 1-2. [Consulta: 30 abril 2018]. ISSN 0213-9251. DOI 10.1016/j.piel.2016.08.009. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213925116302556>.

**TERREROS, S. y REYNEL, C.** Arbustos del Valle del Mantaro, Dp. de Junín (Perú) y su potencial para la protección de suelos [en línea]. Lima. Perú: s.n. 2016, pp. 58. [Consulta: 10 mayo 2018]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Sara\\_Terrerros\\_Camac/publication/315794963\\_Arbustos\\_d\\_el\\_Valle\\_del\\_Mantaro\\_Dp\\_de\\_Junin\\_Peru\\_y\\_su\\_potencial\\_para\\_la\\_proteccion\\_de\\_suelos/links/58e5ae30a6fdcc6800b14b3b/Arbustos-del-Valle-del-Mantaro-Dp-de-Junin-Peru-y-su-potencial-para-la-proteccion-de-suelos.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Sara_Terrerros_Camac/publication/315794963_Arbustos_d_el_Valle_del_Mantaro_Dp_de_Junin_Peru_y_su_potencial_para_la_proteccion_de_suelos/links/58e5ae30a6fdcc6800b14b3b/Arbustos-del-Valle-del-Mantaro-Dp-de-Junin-Peru-y-su-potencial-para-la-proteccion-de-suelos.pdf).

**TORTORA, G. y REYNOLDS, S.** Principios de anatomía y fisiología. 9ª ed. México: Oxford University. 2002. pp. 143-147.

**VALDÉS, R., TORRES, B., GONZÁLEZ, J. y ALMEDA, P.** La piel y el sistema endocrinológico. *Gaceta Médica de México* [en línea], 2012, vol. 148, pp. 163. [Consulta: 20 abril 2018]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2012/gm122g.pdf>.

**VALDIVIA, J., MAYA, M. y PEÑA, J.** Las células guardianes residentes de la piel y su papel en la respuesta inmune. Parte. *Dermatología Peruana* [en línea], 2014, vol. 24, no. 1, pp. 20. [Consulta: 20 abril 2018]. Disponible en: <http://repebis.upch.edu.pe/articulos/dermatol.peru/v24n1/a4.pdf>.

**VALENCIA, C.** Cicatrización: proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas. *Investigaciones Andina* [en línea], 2010, vol. 12, no. 20, pp. 88. [Consulta: 30 abril 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/inan/v12n20/v12n20a08.pdf>.

**VALENZUELA, R., IBIETA, C. y NARVÁEZ, C.** Efectividad del uso tópico de *Salvia officinalis* en la disminución del índice gingival en sujetos con gingivitis. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral* [en línea], 2011, vol. 4, no. 3, pp. 110. [Consulta: 26 mayo 2018]. ISSN 0718-5391. DOI 10.1016/S0718-5391(11)70076-3. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0718539111700763>.

**VALLADARES, L., OTERO, M., PÉREZ, G. y RODRÍGUEZ, M.** Heridas quirúrgicas agudas. Tipos y complicaciones. *Piel* [en línea], 2015, vol. 30, no. 6, pp. 1-2. [Consulta: 29 abril 2018]. ISSN 0213-9251. DOI 10.1016/j.piel.2014.12.002. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213925114004687>.

**VARGAS, E., ALFONSO, I., SOLANO, D., AGUILAR, M. y GÓMEZ, V.** Heridas neoplásicas: aspectos básicos del cuidado de enfermería. *Repertorio de Medicina y Cirugía* [en línea], 2015, vol. 24, no. 2, pp. 96-97. [Consulta: 30 abril 2018]. Disponible en: <https://www.fucsalud.edu.co/sites/default/files/2017-01/articulo%20de%20revision.pdf>.

**VARGAS, O.** Regeneración y cicatrización. *Revista de Actualización Clínica* [en línea], 2014, vol. 43, pp. 2259. [Consulta: 30 abril 2018]. ISSN 2304-3768. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000400003&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000400003&script=sci_arttext).

**VIDAURRE, M., QUEREVALÚ, L., DE LOS RÍOS, E. y RUÍZ, S.** Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. *Rev. Med. Vallejana* [en línea], 2007, vol. 4, no. 2, pp. 127. [Consulta: 17 mayo 2018]. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/rmv/v04n2/pdf/a04v4n2.pdf>.

**VILLALVA, E. y VILDOZO, O.** Trastornos hemodinámicos II: hiperemia, congestión, hemorragia y hemostasia. *Rev. Act. Clin. Med* [en línea], 2014, vol. 43, pp. 2283. [Consulta: 05 junio 2018]. ISSN 2304-3768. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000400008&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000400008&script=sci_arttext).

**WAGNER, H. y BLADT, S.** *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2ª ed. Germany: Springer. 2001. pp. 149-213.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION.** Quality control methods for herbal materials [en línea]. Geneva. Switzerland: World Health Organization, 2011, pp. 29-33. [Consulta: 17 mayo 2018]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/h1791e/h1791e.pdf>.

**YANZA, M.** Evaluación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica del extracto hidroalcohólico de flores y hojas de *Oreocallis grandiflora* [en línea]. (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Ecuador. 2017. pp. 49. [Consulta: 27 abril 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/7929/1/56T00743.pdf>.

**ZAMANI, M., DELFANI, A.M. y JABBARI, M.** Scavenging performance and antioxidant activity of  $\gamma$ -alumina nanoparticles towards DPPH free radical: Spectroscopic and DFT-D studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [en línea], 2018, vol. 201, pp. 4. [Consulta: 12 mayo 2018]. ISSN 1386-1425. DOI 10.1016/j.saa.2018.05.004. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386142518303949>.

**ZAVALA, W., FOSCOLO, M. y CAVICCHIA, J.C.** Distribución de los mastocitos en las glándulas salivales mayores de rata. *Acta Odontológica Venezolana* [en línea], 2010, vol. 48, no. 1. [Consulta: 26 abril 2018]. ISSN 0001-6365. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0001-63652010000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0001-63652010000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

## ANEXOS

### Anexos A. Recolección del material vegetal Salvia real (*Salvia sagittata*)



**Gráfico 1A:** Salvia Real (*Salvia sagittata*)

### Anexos B. Acondicionamiento del material vegetal



**Gráfico 2B:** Hojas de Salvia Real (*Salvia sagittata*) secas

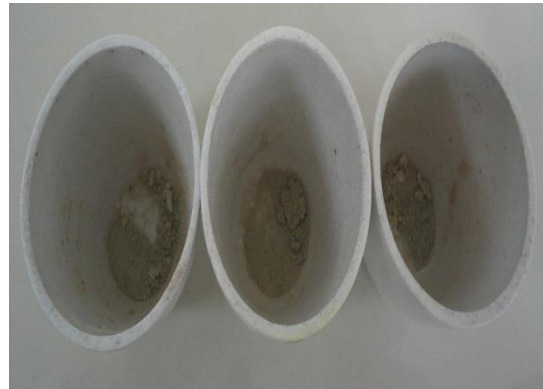


**Gráfico 3B:** Material vegetal pulverizada

**Anexos C. Control de calidad del material vegetal**



**Gráfico 4C:** Determinación del contenido de humedad

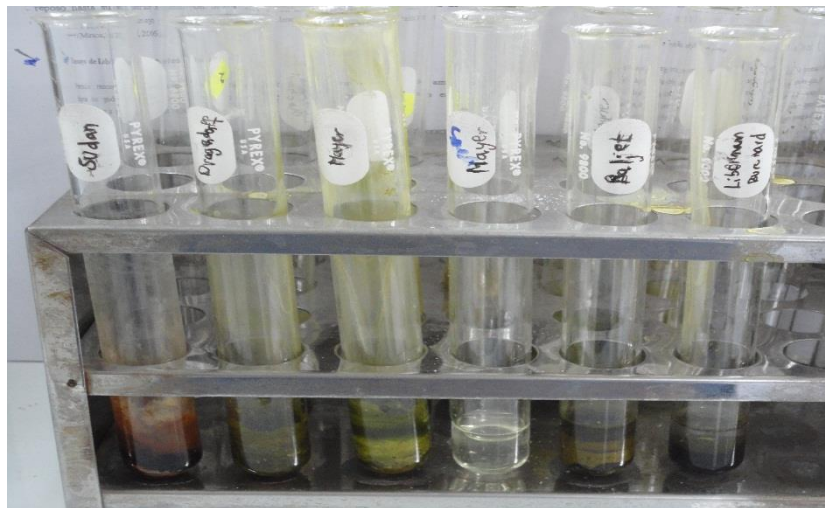


**Gráfico 5C:** Determinación de cenizas totales



**Gráfico 6C:** Determinación de cenizas solubles e insolubles

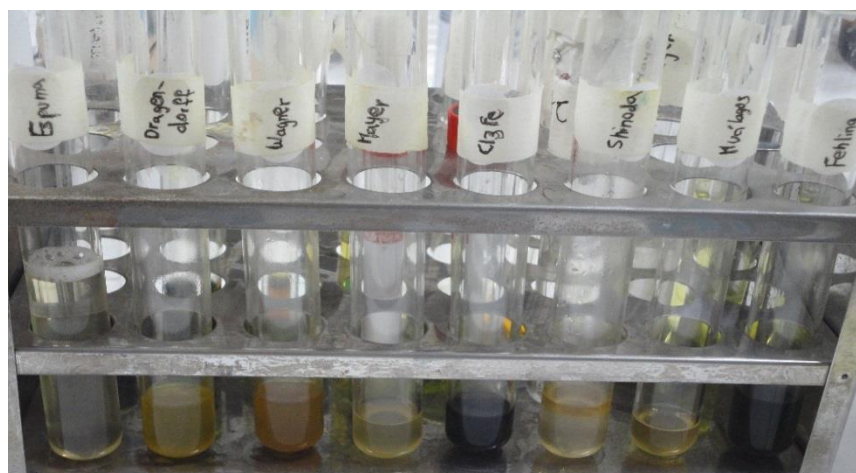
**Anexos D. Tamizaje fitoquímico**



**Gráfico 7D: Extracto etéreo**



**Gráfico 8D: Extracto alcohólico**



**Gráfico 9D: Extracto acuoso**



**Anexos E. Control de calidad del extracto hidroalcohólico**



**Gráfico 10E:** Determinación del pH

**Anexos F. Obtención del extracto liofilizado**



**Gráfico 11F:** Rotavapor



**Gráfico 12F:** Sonicador



**Gráfico 13F:** Liofilizador

**Anexos G. Cromatografía en capa fina**



**Gráfico 14G:** Desarrollo de la cromatografía

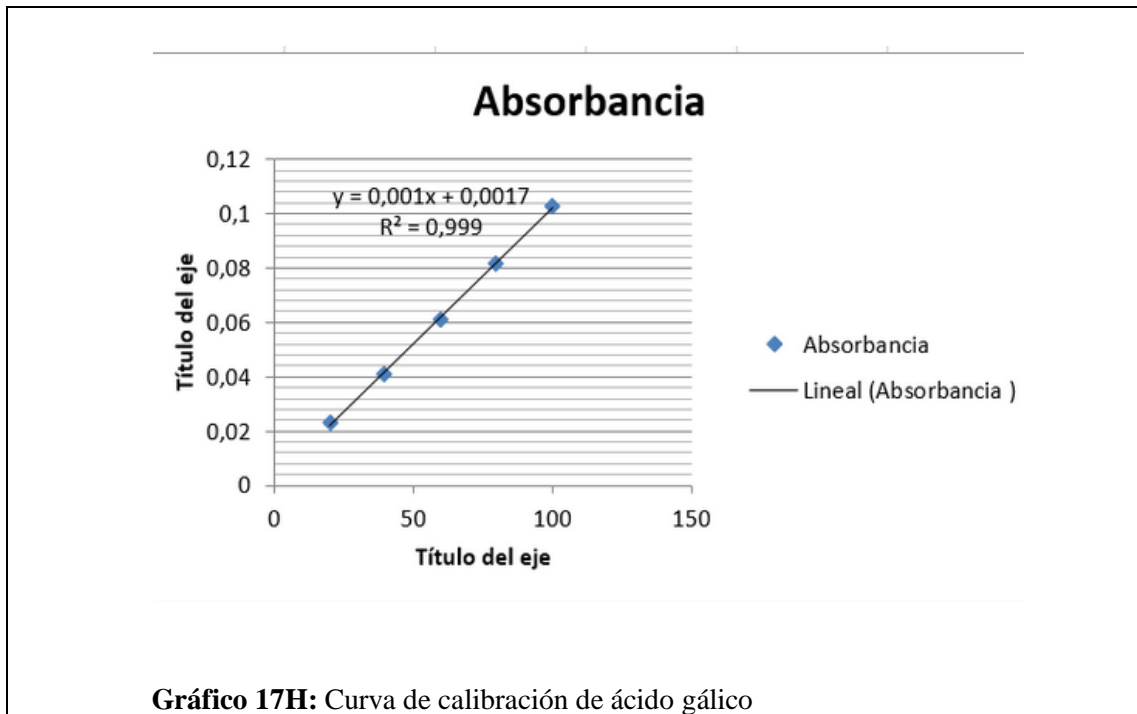


**Gráfico 15G:** Análisis cromatográfico para flavonoides



**Gráfico 16G:** Análisis cromatográfico para aceites esenciales

**Anexos H.** Cuantificación de fenoles totales



**Gráfico 17H:** Curva de calibración de ácido gálico

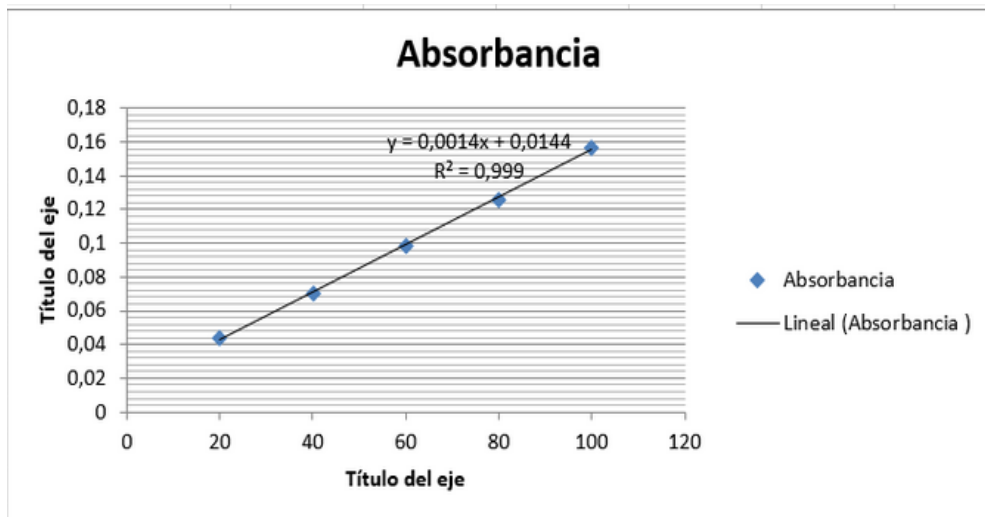


**Gráfico 18H:** Solución del extracto liofilizado de *Salvia sagittata*



**Gráfico 19H:** Solución del extracto liofilizado del *Eupatorium glutinosum*

**Anexos I.** Cuantificación de flavonoides totales



**Gráfico 20I:** Curva de calibración de quercetina



**Gráfico 21I:** Solución del extracto liofilizado de *Salvia sagittata*



**Gráfico 22I:** Solución del extracto liofilizado del *Eupatorium glutinosum*

**Anexos J.** Determinación de la actividad antioxidante



**Gráfico 23J:** Solución del extracto liofilizado de *Salvia sagittata*



**Gráfico 24J:** Solución del extracto liofilizado del *Eupatorium glutinosum*

**Anexos K.** Preparación de los geles



**Gráfico 25K:** Hidratación del carbopol



**Gráfico 26K:** Solución madre del extracto liofilizado de *Salvia sagittata* y *Eupatorium glutinosum*



**Gráfico 27K:** Obtención de geles de *Salvia sagittata* y *Eupatorium glutinosum*

**Anexos L.** Determinación de la actividad cicatrizante



**Gráfico 28L:** Periodo de ambientación de los ratones (*Mus musculus*)



**Gráfico 29L:** Obtención de los pesos de los ratones (*Mus musculus*)



**Gráfico 30L:** Aplicación de la crema depilatoria



**Gráfico 31L:** Depilación en el dorso del ratón



**Gráfico 32L:** Inducción de la herida



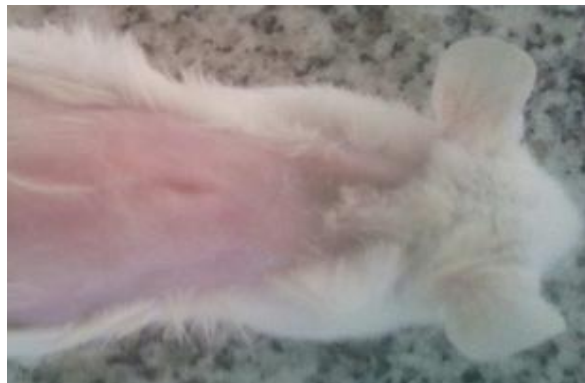
**Gráfico 33L:** Aplicación del gel



**Gráfico 34L:** Medición de la herida



**Gráfico 35L:** Disminución de la herida



**Gráfico 36L:** Cicatrización

**Anexos M. Examen histopatológico**



**Gráfico 37M:** Eutanasia del ratón



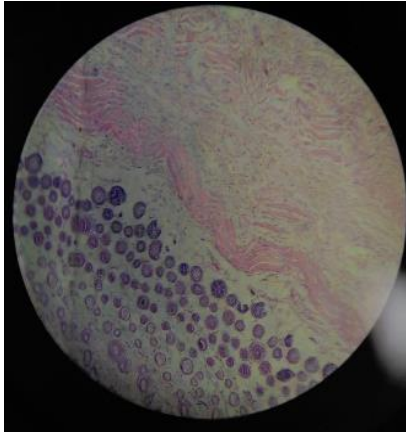
**Gráfico 38M:** Muestra de la piel



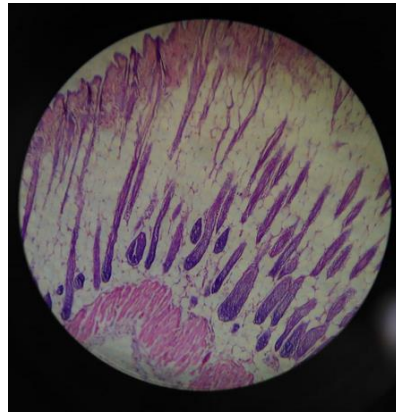
**Gráfico 39M:** Casetes de biopsia de la piel en formol



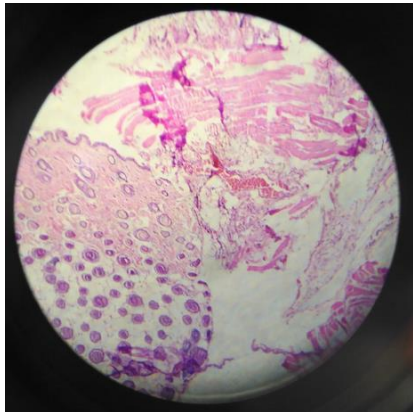
**Anexos N. Examen microscópico de las muestras de la piel**



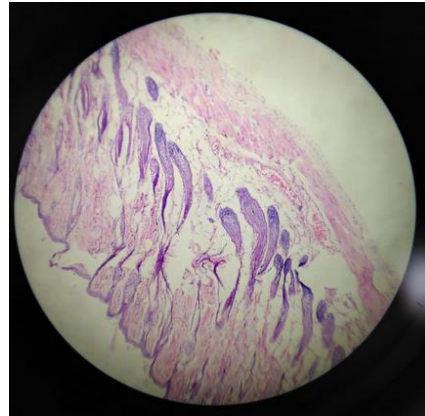
**Gráfico 40N:** Salvia Real (*Salvia sagittata*) 300 ppm



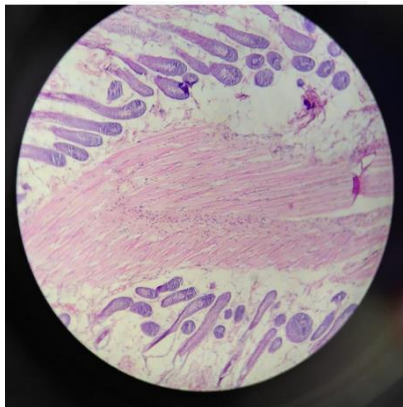
**Gráfico 41N:** Salvia Real (*Salvia sagittata*) 100 ppm



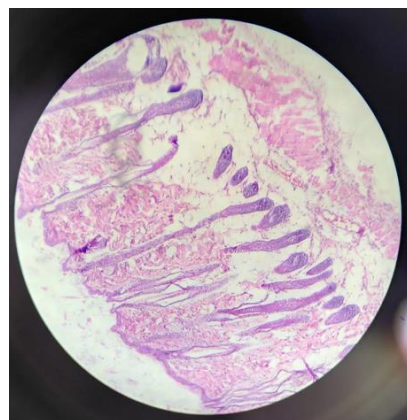
**Gráfico 42N:** Salvia Real (*Salvia sagittata*) 25 ppm



**Gráfico 43N:** Matico (*Eupatorium glutinosum*)



**Gráfico 44N:** Ungüento dérmico antibiótico



**Gráfico 45N:** Blanco

**Anexos O. Identificación del material vegetal**



**HERBARIO POLITECNICA CHIMBORAZO (CHEP)**  
ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL CHIMBORAZO  
Panamericana sur Km 1, fono: (03) 2 998-200 ext. 700123, jcaranqui@yahoo.com  
Riobamba Ecuador

**Ofc.No.014.CHEP.2018**

Riobamba, 3 de abril del 2018

Ing. Marcelo Pino

DIRECTOR PROVINCIA MAE- CHIMBORAZO


De mis consideraciones:

Reciba un atento y cordial saludo, por medio de la presente informo que bajo la responsabilidad del Srta. Sandra Patricia Díaz García con CI: 060470573-1, cuyo tema es "Determinación de la actividad cicatrizante de la especie *Salvia sagitatta* Ruiz & Pav., mediante lesiones inducidas en ratones; Revizado en los registros en el herbario, comunico que en un tiempo establecido va ha ser ingresada a la colección del herbario.

Anticipando mis agradecimientos por la atención a la presente

Me despido  
Atte.



  
Ing. Jorge Caranqui  
BOTANICO  
HERBARIO ESPOCH

FACULTAD DE  
RECURSOS  
NATURALES


Anexos P. Control microbiológico de los geles *Salvia sagittata*



Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos  
en Aguas y Alimentos

EXAMEN MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO: 076-18

<b>CLIENTE:</b> Srta. Sandra Díaz			
<b>DIRECCIÓN:</b> 10 de Agosto 1646 y Alvarado		<b>TELÉFONO:</b>	
<b>TIPO DE MUESTRA:</b> Salvia 25 ppm			
<b>FECHA DE RECEPCIÓN:</b> 02 de marzo del 2018			
<b>FECHA DE MUESTREO:</b> 02 de marzo del 2018			
<b>EXAMEN MICROBIOLÓGICO</b>			
PARAMETRO	UNIDADES	MÉTODO DE ENSAYO	RESULTADO
Coliformes totales	UFC/mL	INEN 1529-7	Ausencia
Aerobios mesófilos	UFC/mL	INEN 1529-5	35
Mohos y levaduras	UFC/mL	INEN 1529-10	Ausencia
<b>OBSERVACIONES:</b>			
<b>FECHA DE ENTREGA :</b> 09 de marzo del 2018			
<b>RESPONSABLE:</b>			
			
<b>Dra. Gina Álvarez R.</b>			
El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.			

Dirección: Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes  
Contáctanos: 0998580374 - 032 942 322  
Riobamba - Ecuador



Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos  
en Aguas y Alimentos

### EXAMEN MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO: 077-18

<b>CLIENTE:</b> Srta. Sandra Díaz			
<b>DIRECCIÓN:</b> 10 de Agosto 1646 y Alvarado		<b>TELÉFONO:</b>	
<b>TIPO DE MUESTRA:</b> Salvia 100 ppm			
<b>FECHA DE RECEPCIÓN:</b> 02 de marzo del 2018			
<b>FECHA DE MUESTREO:</b> 02 de marzo del 2018			
<b>EXAMEN MICROBIOLÓGICO</b>			
PARAMETRO	UNIDADES	MÉTODO DE ENSAYO	RESULTADO
Coliformes totales	UFC/mL	INEN 1529-7	Ausencia
Aerobios mesófilos	UFC/mL	INEN 1529-5	22
Mohos y levaduras	UFC/mL	INEN 1529-10	Ausencia
<b>OBSERVACIONES:</b>			
<b>FECHA DE ENTREGA :</b> 09 de marzo del 2018			
<b>RESPONSABLE:</b>			
			
<b>Dra. Gina Álvarez R.</b>			
El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.			

Dirección: Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes  
Contáctanos: 0998580374 - 032 942 322  
Riobamba - Ecuador



Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos  
en Aguas y Alimentos

### EXAMEN MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO: 076-18

CLIENTE: Srta. Sandra Díaz	
DIRECCIÓN: 10 de Agosto 1646 y Alvarado	TELÉFONO:
TIPO DE MUESTRA: Salvia 300 ppm	
FECHA DE RECEPCIÓN: 02 de marzo del 2018	
FECHA DE MUESTREO: 02 de marzo del 2018	


#### EXAMEN MICROBIOLÓGICO

PARAMETRO	UNIDADES	MÉTODO DE ENSAYO	RESULTADO
Coliformes totales	UFC/mL	INEN 1529-7	Ausencia
Aerobios mesófilos	UFC/mL	INEN 1529-5	10
Mohos y levaduras	UFC/mL	INEN 1529-10	Ausencia

#### OBSERVACIONES:

FECHA DE ENTREGA : 09 de marzo del 2018

#### RESPONSABLE:

  
Dra. Gina Álvarez R.

El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.

Dirección: Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes  
Contáctanos: 0998580374 - 032 942 322  
Riobamba - Ecuador