



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIDIARRÉICO Y CICATRIZANTE DE LA
INFUSIÓN Y DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Cyclosporum
leptophyllum* (Pers.) Sprague EN RATONES (*Mus musculus*) Y CONEJOS
(*Oryctologus cuniculus*)”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR

CRISTINA ELIZABETH ROBALINO LÓPEZ

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

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

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIDIARRÉICO Y CICATRIZANTE DE LA INFUSIÓN Y DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Cyclospermum leptophyllum* (Pers.) Sprague EN RATONES (*Mus musculus*) Y CONEJOS (*Oryctologus cuniculus*)”**, de responsabilidad de la señora egresada Cristina Elizabeth Robalino López, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Susana Abdo

DIRECTORA DE TESIS

BQF. Germán Toapanta

MIEMBRO DE TRIBUNAL

Dr. Carlos Espinosa

MIEMBRO DE TRIBUNAL

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, Cristina Elizabeth Robalino López, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

CRISTINA ELIZABETH ROBALINO LÓPEZ

DEDICATORIA

A mi padre y a mi esposo por el apoyo incondicional.

A mi hijo por ser el motivo de mi vida.

A mis hermanos a la distancia.

Y a todas aquellas mentes que consideramos que un vegetal tiene tesoros escondidos en él.

AGRADECIMIENTO

A mi familia por el apoyo incondicional y la fuerza brindada durante este tiempo.

A la Dra. Cumandá Játiva por el conocimiento y el apoyo brindado.

A la Dra. Susana Abdo y al BQF. Germán Toapanta por su valiosa colaboración en el desarrollo de la presente Tesis

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AMPc	Adenosínmonofosfato cíclico
AEM	Agar eosina azul de metileno
B	Blanco
CIOM	Consejo Nacional De Organizaciones Médicas
°C	Grados Celsius
cm	Centímetro
DG	Diacilglicerol
DL ₅₀	Dosis letal cincuenta
G	Gramos
G1	Grupo investigativo 1
G2	Grupo investigativo 2
G3	Grupo positivo
G4	Control negativo
GI	Gastrointestinal
GMPc	Guanosínmonofosfato cíclico
GTP	Guanosintrifosfato
h	Horas
IP ₃	Inositol 1,4,5 trifosfato
Kg	Kilogramo
L	Litro
LADME	Etapas de la farmacodinámica. Liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción.
NMR1	Cepas no consanguíneas
M	Metros
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
OCDE	Organización para la cooperación y el desarrollo económico

pH	Potencial de hidrógeno
PKC	Proteína cinasa
PFA001	Protocolo farmacológico antidiarréico
PFC001	Protocolo farmacológico de cicatrización
PHP 001	Protocolo Histopatológico
PT 001	Protocolo Toxicológico
®	Marca Registrada
RhoA	Proteína pequeña conocida para regular la actina del citoesqueleto en la formación de fibras de estrés.
R ₁	Primera Repetición
R ₂	Segunda Repetición
R ₃	Tercera Repetición
R ²	Coefficiente de correlación lineal
R _f	Ratio of Front
T1	Grupo investigativo 1
T2	Grupo investigativo 2
T3	Grupo positivo
T4	Control negativo
T5	Grupo investigativo 3
TLC	Cromatografía de capa delgada o fina
Ufc	Unidades formadoras de colonias
v.o.	Vía oral

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	i
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
INTRODUCCIÓN	
CAPÍTULO I.....	3
1.MARCO TEÓRICO.....	3
1.1.PLANTAS MEDICINALES	3
1.2.FARMACOLOGÍA	4
1.2.1.PARTES DE LA FARMACOLOGÍA.....	4
1.2.1.1.Farmacognosia	4
1.2.1.2.Estudios Pre Clínicos:	5
1.3.PIEL.....	6
1.3.1.PIEL DE MAMÍFEROS.....	6
1.3.1.1.La Epidermis.....	7
1.3.1.2.La Dermis	8
1.3.1.3.Tejido Subcutáneo	9
1.3.2.HERIDAS	9
1.3.2.1.Tipos de Heridas	9
1.3.3.HERIDAS SEGÚN EL AGENTE QUE LOS PROVOCA.....	10
1.3.3.1.Heridas Incisas.	10
1.3.3.2.Contusas.....	10

1.3.3.3.Penetrantes.....	10
1.3.4.CICATRIZACIÓN	11
1.3.4.1.Fases de cicatrización.	11
1.3.4.2.Tipos de cicatrización de las heridas.	12
1.3.5.CICATRIZANTES COMERCIALES.....	14
1.3.5.1.Antibióticos y quimioterápicos para uso dermatológico.	14
1.4.FARMACOLOGÍA DE LA DIARREA.....	15
1.4.1.CONTRACCIÓN DEL MÚSCULO LISO	16
1.4.2.RELAJACIÓN DEL MÚSCULO LISO.....	16
1.4.3.INTESTINO DELGADO Y MOTILIDAD.....	17
1.4.4.DIARREA.....	18
1.4.4.1.Aumento de la osmolaridad intestinal (diarrea osmótica)	18
1.4.4.2.Diarrea secretora	19
1.4.4.3.Alteración de la motilidad.....	19
1.4.4.4.Diarrea inflamatoria o exudativa	20
1.5.MEDICAMENTOS USADOS PARA CONTROLAR LA DIARREA.	20
1.5.1.AGENTES ANTIDIARRÉICOS NO ESPECÍFICOS	20
1.5.1.1.Antiperistálticos o antimotilidad.....	21
1.5.1.2.Anticolinérgicos.....	21
1.5.1.3.Absorbentes	21
1.5.1.4.Probióticos.....	22
1.5.1.5.Antisecretores	22
1.5.1.6.Medicina herbolaria	22
1.5.2.AGENTES ANTIDIARRÉICOS ESPECÍFICOS.....	23
1.5.2.1.Antiinfeciosos (Antibióticos).....	23
1.5.2.2.Potenciadores de la absorción intestinal.	23

1.6.FAMILIA APIACEAS	24
1.6.1. <i>Cyclospermum leptophyllum</i> (Pers.) Sprague	25
1.6.1.1. Distribución por tipo de clima	26
1.6.1.2. Usos.....	27
1.6.1.3. Animales de laboratorio.....	27
1.6.2. <i>Mus musculus</i>	27
1.6.2.1. Morfología.	28
1.6.3. <i>Oryctolagus cuniculus</i>	28
1.6.3.1. Morfología..	29
CAPÍTULO II	30
2. PARTE EXPERIMENTAL	30
2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.....	30
2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	30
2.2.1. MATERIAL VEGETAL.	30
2.2.2. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	31
2.2.2.1. Cicatrización: Conejos Albinos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	31
2.2.2.2. Antidiarréico: Ratones (<i>Mus musculus</i>).....	32
2.2.3. MATERIAL FARMACOLÓGICO	32
2.2.4. EQUIPOS.....	33
2.2.5. MATERIALES	33
2.2.6. REACTIVOS	34
2.3. METODOLOGÍA.....	34
2.3.1. COLECTA DE MATERIAL VEGETAL E IDENTIFICACIÓN.....	34
2.3.2. CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA VEGETAL.....	34
2.3.2.1. Determinación de humedad	34
2.3.2.2. Determinación de cenizas totales.....	34

2.3.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	35
2.3.4. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO	35
2.3.4.1. Determinación de las Características Organolépticas.....	35
2.3.4.2. Determinación del pH.	35
2.3.4.3.Determinación de la densidad relativa.....	35
2.3.4.4.Determinación del índice de refracción.	36
2.3.4.5.Determinación de sólidos totales.	36
2.3.4.6.Tamizaje fitoquímico.....	36
2.3.4.7. Cromatografía	37
2.4. PREPARACIÓN DE LA INFUSIÓN.	37
2.5. EVALUACIÓN DE ACTIVIDADES FARMACOLÓGICAS.....	38
2.5.1.EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO. PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDA POR ESCISIÓN. (PFC001)	38
2.5.1.1. Aclimatación.....	38
2.5.1.2.Definición de los grupos para evaluar la actividad cicatrizante.	39
2.5.1.3.Preparación del experimento.	41
2.5.1.4.Periodo de Investigación.....	42
2.5.1.5.Evaluación.	42
2.5.2.EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIDIARRÉICA DE LA INFUSIÓN DE LA PARTE AÉREA DE LA PLANTA. PROTOCOLO FARMACOLÓGICO ANTIDIARRÉICO (PFA001)	43
2.5.2.1.Aclimatación.....	43
2.5.2.2.Periodo de investigación.....	43
2.5.2.3.Evaluación.	45
2.5.3.ESTUDIOS DE TOXICIDAD AGUDA.	46
2.5.3.1.Aclimatación.....	46

2.5.3.2.Evaluación Clínica.....	47
2.5.3.3.Histopatológico.....	47
CAPÍTULO III.....	48
3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
3.1.CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA VEGETAL.....	48
3.2.CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO.	49
3.2.1.PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS.....	50
3.2.1.1.Físicas-químicas.....	50
3.2.2.TAMIZAJE FITOQUÍMICO	51
3.2.2.1.Taninos.....	53
3.2.2.2.Flavonoides.....	53
3.2.2.3.Saponinas.....	54
3.2.3.CROMATOGRAFÍA.....	54
3.2.3.1.Flavonoides.....	54
3.2.3.2.Saponinas.....	55
3.3.EVALUACIÓN <i>in vivo</i>	56
3.3.1.ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO	56
3.3.1.1.Tiempo de cicatrización (Días).....	57
3.3.1.2.Variación diaria de longitud y ancho de la herida durante el tratamiento.	59
3.3.1.3.Cicatrices al final del tratamiento.	60
3.3.2.ACTIVIDAD ANTIDIARRÉICA DE LA INFUSIÓN DE <i>Cyclospermum leptophyllum</i>	62
3.3.2.1.Tiempo de aparición de la primera deposición.....	62
3.3.2.2.Tipo de heces durante la experimentación.....	63
3.3.2.3.Peso de las heces.....	64
3.3.3.TOXICIDAD	66

3.3.3.1.Variación de peso.....	66
3.3.3.2.Comportamiento toxicológico.	67
3.3.3.3.Análisis Histopatológico.....	68
CAPÍTULO IV	74
4.CONCLUSIONES	74
CAPÍTULO V	75
5.RECOMENDACIONES	75
CAPÍTULO VI.....	76
6.RESUMEN	76
CAPITULO VII.....	77
7.BIBLIOGRAFÍA	787
CAPÍTULO VIII.....	9291
8.ANEXOS.....	9291

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Resultados del análisis microbiológico del habitat de los conejos. Laboratorio de microbiología aplicada. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.	39
CUADRO No. 2	Resultados del control de calidad de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> fresco. Laboratorio de Fitoquímica y Farmacología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013	48
CUADRO No. 3	Resultados del control de calidad de las propiedades físicas del extracto etanólico de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> (vegetal fresco). Laboratorio de Fitoquímica y Farmacología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.	50
CUADRO No. 4	Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> (vegetal fresco). Laboratorio de Fitoquímica y Farmacología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.	51
CUADRO No. 5	Resultados de la cromatografía para flavonoides del extracto etanólico de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> (vegetal fresco). Laboratorio de Fitoquímica y Farmacología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.	54
CUADRO No. 6	Resultados de la cromatografía para saponinas del extracto etanólico de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> (vegetal fresco). Laboratorio de Fitoquímica y Farmacología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.	55
CUADRO No. 7	Resultados del tiempo de cicatrización total de la herida. Laboratorio experimental. Lizarzaburo y Camilo Egas. Riobamba. Octubre del 2013.	57
CUADRO No. 8	Resultados de variación de longitud y ancho de la herida durante el tratamiento. Lizarzaburo y Camilo Egas. Riobamba. Octubre del 2013.	59
CUADRO No. 9	Resultados de cicatrices al final del tratamiento. Laboratorio	60

experimental. Lizarzaburo y Camilo Egas. Riobamba. Octubre del 2013

- CUADRO No. 10 Resultados de la evaluación del comportamiento toxicológico de los ratones. Bioterio de la Escuela De Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013. 67
- CUADRO No. 11 Dimensiones de los órganos de los ratones luego de los 14 días de evaluación. Donde las letras H, R, E representan hígado, riñón y estomago respectivamente. Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013. 70

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Factores locales o sistémicos que impiden la normal cicatrización de una herida	12
TABLA No. 2	Información taxonómica de <i>Cyclosporum leptophyllum</i>	26
TABLA No. 3	Composición del alimento de los conejos durante la experimentación (PRONACA)	38
TABLA No. 4	Definición de los grupos de experimentación para cicatrización.	40
TABLA No. 5	Definición de los grupos de experimentación antidiarréica	44
TABLA No. 6	Características físicas evaluadas de las heces.	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Días de cicatrización de las heridas de los conejos. Habitación experimental. Lizaraburo y Camilo Egas. Riobamba. Octubre del 2013	56
GRÁFICO No. 2	Tiempo de la primera defecación luego de la administración del tratamiento y el agente diarreico. Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013	62
GRÁFICO No. 3	Resultados del porcentajes del tipo de heces que presenta cada grupo durante la experimentación. Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013	63
GRÁFICO No. 4	Peso de las heces después de las 6 horas del tratamiento. Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.	64
GRÁFICO No. 5	Variación del peso de los ratones luego del tratamiento toxicológico. Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.	66
GRÁFICO No. 6	Comparaciones múltiples de las características macroscópicas de los ratones en el tratamiento toxicológico. Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013	71

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Cicatrización por primera y segunda intensidad.	13
FIGURA No. 2	Ubicación geográfica de que <i>Cyclosporum leptophyllum</i> . San Miguelito.	31
FIGURA No. 3	Exterior del conejo. Partes	41

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	<i>CyclospERMUM leptophyllum</i>	26
FOTOGRAFÍA No. 2	Conejo albino joven (<i>Oryctologus cuniculus</i>).	32
FOTOGRAFÍA No. 3	Ratón albino macho joven (<i>Mus musculus</i>)	32
FOTOGRAFÍA No. 4	Incisión. En el literal A se pueden observar la aponeurosis luego del corte y las estructuras de la piel afectadas. El B muestra la imagen desde otra perspectiva, observándose superficialmente la herida	42
FOTOGRAFIA No. 5	Recolección de heces en papel aluminio	45
FOTOGRAFÍA No. 6	Extracto etanólico	49
FOTOGRAFÍA No. 7	Hígado de ratón con características normales donde se observa la vesícula biliar.	68
FOTOGRAFÍA No. 8	Riñón de ratón con características morfológicas normales; en el B (blanco) se observa la cápsula adiposa y en el T1 la forma de habichuela del órgano.	69
FOTOGRAFÍA No. 9	Estómago de ratón con características morfológicas normales.	70

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Protocolo Farmacológico Antidiarréico (PFA001)	91
ANEXO No. 2	Protocolo Farmacológico De Cicatrización: Herida Por Escisión. (PFC001)	96
ANEXO No. 3	Protocolo histopatológico de ratones <i>Mus musculus</i> a los que se les administró la infusión de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> . (PHP 001)	100
ANEXO No. 4	Protocolo histopatológico de ratones <i>Mus musculus</i> a los que se les administró la infusión de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> . (PHP 001)	104
ANEXO No. 5	Análisis estadístico de la actividad cicatrizante. Tiempo de cicatrización en días	105
ANEXO No. 6	Análisis estadístico de la actividad cicatrizante. Variación diaria de longitud de la herida	106
ANEXO No. 7	Análisis estadístico de la actividad cicatrizante. Variación diaria del ancho de la herida	107
ANEXO No. 8	Análisis estadístico de la actividad cicatrizante. Longitud de la cicatriz al final del tratamiento	108
ANEXO No. 9	Análisis estadístico de la actividad cicatrizante. Ancho de la cicatriz al final del tratamiento	109
ANEXO No. 10	Análisis estadístico de la actividad antidiarréica. Tiempo de la primera deposición	110
ANEXO No. 11	Análisis estadístico de la actividad antidiarréica. Peso de las heces	111
ANEXO No. 12	Toxicidad. Variación de peso.	112
ANEXO No. 13	Tamizaje fitoquímico. Laboratorio de Fitoquímica y Farmacología. Octubre 2013	113
ANEXO No. 14	Evaluación de la actividad cicatrizante de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> .	113
ANEXO No. 15	Evaluación de la actividad antidiarréica de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> .	114

ANEXO No. 16 Hoja de análisis de la combinación de acetato de 115
prednisolona sulfato de neomicina

ANEXO No. 17 Hoja de análisis de la loperamida 115

INTRODUCCIÓN

Si bien la medicina moderna está bien desarrollada en la mayor parte del mundo, grandes sectores de la población en los países en desarrollo todavía dependen de la medicina tradicional, las plantas medicinales y los medicamentos herbarios para su atención primaria. En Ecuador mucha de la flora y fauna, es aprovechada por los indígenas y ancianos de las comunidades de forma empírica, mientras que solo una pequeña cantidad de especies ha sido estudiada para verificar las posibles aplicaciones farmacológicas, de las cuales se dispone de datos sobre la seguridad y la eficacia de un número aún menor de plantas, extractos y principios activos. (16)

El uso de plantas medicinales en Ecuador es elevado por los conocimientos ancestrales manifestados durante el pasar de los años pero, al usar la medicina tradicional con ligereza, no se piensa en las consecuencias derivadas que pueden ser nocivas pues algunas de ellas no presentan efectos secundarios, pero el uso de otras son muy peligrosas por los principios activos que poseen, (13) corriendo el riesgo de intoxicaciones e incluso muchas de ellas no poseen las actividades que se les atribuyen. Por esto es necesaria la validación de plantas que se usan tradicionalmente de forma que aseguremos su inocuidad y eficacia mediante el registro y la reglamentación.

En la actualidad en Ecuador el uso, preparación y comercio de las plantas medicinales y sus preparaciones farmacéuticas se rige por el Acuerdo 0244 del Ministerio de Salud Pública, publicado en el Registro Oficial 385 del 26 de octubre de 2006 (19), en el cual se establecen las normas y procedimientos para el registro sanitario y control de productos naturales de uso medicinal y de los establecimientos en donde se fabrican, almacenan y comercializan dichos productos.

Las disposiciones de este Acuerdo se aplican a los productos naturales de uso medicinal, que tradicionalmente han sido utilizados en forma empírica con fines

terapéuticos, y que demuestren estar libres de riesgos para la salud humana, a través de la sustentación bibliográfica, análisis químicos, ensayos de actividad biológica y pruebas toxicológicas.

Por lo explicado se estudió *Cyclospermum leptophyllum* (Pers.) Sprague por ser una de las plantas que se usa tradicionalmente en el tratamiento de la indigestión por exceso de alimentos, para contrarrestar la diarrea en caso de infección intestinal, en el lavado de úlceras, heridas, erupciones cutáneas, reumatismo, enfermedades de la vejiga y riñones; pues no posee estudios farmacológicos o toxicológicos que puedan confirmar sus propiedades o riesgos durante su empleo. (50)

En el presente trabajo se analiza por tanto si las propiedades cicatrizantes y antidiarréicas atribuidas a esta planta son ciertas y si la ingestión de la infusión de esta planta causa o no problemas de toxicidad aguda.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. PLANTAS MEDICINALES

El uso de las plantas medicinales se remonta a tiempos inmemoriales, ya que en ellos encontraban alivio para diversas dolencias. El conocimiento de las plantas medicinales se desarrolla junto con la evolución del progreso social y científico. (55)

Actualmente, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional para atender sus necesidades primarias de asistencia médica. La terapéutica tradicional se basa sobre todo en el empleo de extractos o principios activos de las plantas. Los estudios de la OMS muestran que son muchas las personas que utilizan plantas medicinales y que su número tiende a aumentar incluso entre los jóvenes, además nos muestra que los países desarrollados también dan uso a principios activos procedentes de plantas. (37)

Las plantas medicinales son vegetales que elaboran sustancias que ejercen una acción farmacológica beneficiosa ó perjudicial para el organismo vivo, ya que poseen principios activos que ayudan en la prevención, tratamiento de enfermedades o en otros casos provocan intoxicaciones por su mal uso. (27)

Como resultado de la promoción que ha hecho la OMS de la medicina tradicional, los países han venido solicitando la ayuda de la Organización para identificar medicamentos herbarios inocuos y eficaces que puedan usarse en los sistemas nacionales de asistencia sanitaria. En países desarrollados y en desarrollo, los consumidores y los proveedores de asistencia sanitaria necesitan recibir información

actualizada y autorizada sobre las propiedades beneficiosas y los posibles efectos nocivos de todos los medicamentos herbarios. (29)(27)

1.2. FARMACOLOGÍA

La farmacología es el estudio del valor terapéutico y/o la toxicidad potencial de los agentes químicos sobre los sistemas biológicos. Se dirige a los diferentes aspectos de los mecanismos de los agentes terapéuticos, tanto los tradicionales como los nuevos. Integralmente, la farmacología abarca el conocimiento de las fuentes, propiedades químicas, efectos biológicos y usos terapéuticos de los fármacos. (12)

1.2.1. PARTES DE LA FARMACOLOGÍA.

- a) Farmacognosia: parte de la farmacología que estudia el origen de los fármacos.
- b) Farmacotecnia (Técnica farmacéutica): es la parte de la farmacología que estudia la elaboración de los medicamentos en función de la forma farmacéutica.
- c) Farmacocinética: parte de la farmacología que estudia “los movimientos del fármaco dentro del organismo” (LADME).
- d) Farmacodinámica: es la parte de la farmacología que estudia todos los procesos de interacción entre fármacos y receptores específicos dentro del organismo.
- e) Farmacoterapia: relacionado con la farmacotoxicia, estudia los beneficios de los fármacos.
- f) Farmacotoxicia: parte de la farmacología que estudia los efectos adversos (63)

1.2.1.1. Farmacognosia

La ciencia farmacéutica que se ocupa del estudio de las drogas y las sustancias medicamentosas de origen natural de interés farmacéutico, se la conoce como farmacognosia. Esta estudia tanto sustancias con propiedades terapéuticas como sustancias tóxicas, excipientes u otras sustancias de interés farmacéutico, su uso es básicamente tecnológico y no terapéutico. En general trata sobre los aspectos botánicos, químicos, biológicos y económicos de las drogas, destinadas a la preparación de medicamentos. (10)

La farmacognosia presenta objetivos como:

1. Determinar el origen sistemático: la especie (vegetal o animal) de donde proviene la droga.
2. Establecer las características morfoanatómicas: tanto macroscópicas y microscópicas, como organolépticas, que permiten la caracterización de la droga y la determinación de la planta medicinal en cuestión.
3. Investigar los métodos óptimos de producción de las drogas (a pequeña y a gran escala): cultivo, mejora, recolección, conservación, extracción de los principios activos, etc.
4. Establecer la composición química de la droga: tanto cualitativa como cuantitativamente, sobre todo en lo que se refiere a principios activos.
5. Obtener los extractos de las drogas que contienen los principios activos.
6. Controlar la calidad de las drogas: buscar métodos para comprobar los contenidos requeridos de principios activos, asegurar la ausencia de ciertos productos tóxicos y evitar adulteraciones y falsificaciones.
7. Establecer las propiedades farmacológicas de las drogas (su actividad)
8. Investigar nuevos principios activos que puedan constituir un punto de partida para el diseño de nuevos fármacos en el futuro. (10) (62)

Del extracto vegetal se debe considerar la calidad la seguridad y la eficacia los cuales son evaluados mediante diferentes estudios.

1.2.1.2. Estudios Pre Clínicos:

Antes de ensayar cualquier medicamento en el hombre debe existir un adecuado y amplio estudio farmacológico para el desarrollo o uso de un medicamento, los estudios se efectúan *in vitro* o en animales de experimentación, se diseñan para obtener la información necesaria para decidir si se justifican estudios más amplios en seres humanos sin exponerlos a riesgos injustificados por lo que deben brindar información farmacodinámica, farmacocinética y toxicología necesaria y suficiente. (13) (23)

ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS.

Toxicidad aguda: Exposición a una sola dosis mínima y dosis Letal DL50. El objetivo es obtener datos sobre los efectos producidos en el animal después de una única exposición del material de ensayo.

Toxicidad Subaguda: Exposición de dosis repetidas en un periodo de tiempo. El objetivo es obtener los efectos adversos que ocurren como resultado de una dosis diaria repetida de una sustancia química, o exposición a una sustancia química durante parte del ciclo de vida de un organismo (generalmente, no excede 10%). Con animales experimentales, el período de exposición puede variar de unos pocos días a seis meses.

Toxicidad Crónica: Son los estudios en donde se observa los efectos adversos que ocurren como resultado de dosis repetidas con una sustancia química sobre una base diaria, o exposición a la sustancia química durante la mayor parte de vida de un organismo (generalmente, más del 50%). Con animales experimentales, esto generalmente significa un período de exposición de más de tres meses. Los estudios con exposición crónica durante dos años, se hacen con ratas o ratones para evaluar el potencial carcinogénico de las sustancias químicas. Puede evaluarse las actividades de carcinogenicidad, genotoxicidad, teratogenicidad. (13)

1.3. PIEL

1.3.1. PIEL DE MAMÍFEROS

Es un órgano elástico y flexible que se renueva continuamente. Suele estar cubierta por un pelaje más o menos espeso y cumple diversas funciones: protege ante daños de tipo mecánico, evita la invasión de gérmenes y regula la pérdida de calor y humedad del cuerpo. (60) Las formas y el color del revestimiento piloso se adapta muchas veces al medio circundante, variando su espesor y consistencia en el transcurso del año. (39) Es el órgano corporal más extenso, representando del 12 al 14% del peso corporal del animal, dependiendo de la edad. Estas producciones cutáneas son extraordinariamente heterogéneas según las especies animales. (60)

La piel también funciona como un órgano sensorial y excretor, pues contiene diferentes tipos de glándulas especializadas, como las glándulas mamarias. Otras estructuras importantes de la piel son las glándulas sudoríparas. Se hallan presentes en casi todas las especies de mamíferos terrestres, aunque están ausentes en algunas. Los mamíferos acuáticos carecen de glándulas sudoríparas. Éstas se encuentran situadas en la base de los pelos, excepto en aquellas regiones de la piel que bordean las membranas mucosas, como son las que rodean los labios o las de los genitales; sin embargo, muchos mamíferos tienen pocas de estas glándulas en estado funcional. Otro tipo de glándulas presentes en los mamíferos son las sebáceas, que producen una secreción grasienta útil para impermeabilizar el pelaje (sobre todo en las especies acuáticas). (60)

El pH de la piel de los mamíferos (canina y felina) normal varía desde aproximadamente 5,5 hasta 6,69. (41) Estructuralmente la piel consta de tres capas bien diferenciadas: la epidermis, la dermis y el tejido subcutáneo.

1.3.1.1. La Epidermis

Es la capa más externa constituida por varias capas de células llamadas queratinocitos, dispuestas unas encima de otras como ladrillos en una pared constituyendo una barrera impermeable para casi todas las sustancias. Se regenera cada 2 meses y su función es mantener la piel hidratada, así como de protegernos de la radiación solar y de cualquier agente externo. La epidermis se halla constituida a su vez por diferentes capas, que reciben distintos nombres de un nivel más profundo al más superficial, son las siguientes:

- a. Capa basal o germinativa: Está formada por una hilera de células vivas con una gran actividad y que regeneran la epidermis constantemente. En esta capa se encuentran los melanocitos, además se encuentran células del sistema inmunológico (células de Langerhans) encargadas de presentar los antígenos (sustancias extrañas del exterior) a los linfocitos, e iniciar así la respuesta inmune.
- b. Capa espinosa: Se sitúa por encima de la capa basal y está constituida por varias hileras de células basales en diferente estadio de evolución. Las células de la capa espinosa se unen entre sí y con las de la capa basal constituyendo un sólido “armazón”.

- c. Capa granulosa: Está formada por elementos celulares aplanados que contienen gránulos de queratohialina. Estas células no poseen capacidad de dividirse, pues su función es exclusivamente la síntesis o formación de queratina.
- d. Capa córnea: Está constituida por capas de células muertas denominadas corneocitos que constituyen el último paso en la evolución de los queratinocitos desde su origen en la capa basal.

1.3.1.2. La Dermis

Forma la mayor proporción de la piel y constituye el verdadero soporte de este órgano. Está dividida en tres zonas que de un nivel más superficial al profundo, reciben los siguientes nombres: Dermis papilar, dermis reticular y dermis profunda. En la dermis se encuentran también los anexos cutáneos, que son de dos tipos: córneos (pelos y uñas) y glandulares (glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas). También se encuentran los vasos sanguíneos que irrigan la piel (la epidermis no posee vasos) y las terminaciones nerviosas.

Los tipos de fibras que constituyen el armazón de la dermis y que dan lugar a la tersura, la flexibilidad y la elasticidad de la piel son:

- Fibras de colágeno: Son el principal componente de la dermis.
- Fibras elásticas: Aunque más escasas que las anteriores, tienen su importancia, pues son las responsables de la elasticidad de la piel.
- Fibras de reticulina: Son muy escasas y se disponen alrededor de los anexos (pelos, uñas, glándulas) y de los vasos sanguíneos.

Las células que forman principalmente la dermis se denominan fibroblastos. Son las que se encargan de producir las fibras de colágeno, elásticas y la sustancia fundamental. Existen además distintas células del sistema inmunológico (linfocitos, macrófagos, eosinófilos y mastocitos) presentes en número variable dependiendo de las circunstancias de la piel aumentando cuando existe inflamación. En este supuesto además se encuentran células extravasadas desde los vasos sanguíneos, hematíes y leucocitos.

La sustancia fundamental se encuentra entre las fibras y está constituida por proteínas (sustancias características de los tejidos orgánicos), electrólitos (como el sodio o el potasio), glucosa y agua. (24)(56)

1.3.1.3. Tejido Subcutáneo

Este sirve como depósito de grasa, que puede alcanzar en algunos animales extraordinario espesor. La capa adiposa aloja y da protección tanto a los vasos sanguíneos y linfáticos como a los nervios y por consiguiente, actúa como almohadilla elástica amortiguando las presiones externas. El tejido subcutáneo corresponde a la aponeurosis superficial y en ocasiones también se le llama hipodermis aunque no es parte de la piel. (39)

1.3.2. HERIDAS

Las heridas se definen como la pérdida de continuidad de un tejido o la separación de las siguientes estructuras: piel, fascia, músculo, hueso, tendones, y vasos sanguíneos. Consiste en un estado patológico en el cual los tejidos están separados entre sí y/o destruidos que se asocia con una pérdida de sustancia y/o deterioro de las funciones de la piel. (31)

1.3.2.1. Tipos de Heridas

a) Según la integridad de la piel.

- Herida Abierta

Es una herida con solución de continuidad de la piel o mucosas, causadas con objetos cortantes o de contusión. Por ejemplo, incisión quirúrgica, venopunción o herida por arma de fuego o arma blanca.

- Herida Cerrada

Son heridas que no presentan solución de continuidad de la piel, cuya causa es contusión con objeto romo, fuerza de torsión, tensión o desaceleración contra el organismo. Por ejemplo, fractura ósea o desgarró visceral.

b) De acuerdo a la gravedad de la lesión.

- **Herida Superficial**

Solo afecta a la epidermis, es causada por la fricción aplicada a la superficie cutánea. Por ejemplo. Abrasión o quemadura de primer grado.

- **Herida Penetrante**

Son las heridas que presentan solución de continuidad de la epidermis, dermis y tejidos u órganos más profundos cuya causa es un objeto extraño o instrumento que penetra profundamente en los tejidos corporales, habitualmente de forma involuntaria. Por ejemplo heridas por arma de fuego o puñalada. (31)

1.3.3. HERIDAS SEGÚN EL AGENTE QUE LOS PROVOCA

1.3.3.1. Heridas Incisas.

Se denomina a las heridas de continuidad nítidas, como las heridas quirúrgicas, que presentan bordes regulares y bien delimitados. En la herida incisa se distinguen dos dimensiones, extensión y profundidad. La longitud del corte en estas heridas en su superficie supera la profundidad de su penetración. La separación de los bordes es mayor, cuanto más perpendicular sea el corte a las líneas de Langer, a lo largo de los cuales la movilidad de la piel sobre los planos profundos es menor. Ejemplo: Herida producida por navaja, bisturí, etc. (39)

1.3.3.2. Contusas

Es provocada por instrumentos romos y se caracterizan por bordes irregulares y desflecados. (42)

1.3.3.3. Penetrantes

Son producidas por agentes punzantes. (42)

1.3.4. CICATRIZACIÓN

La cicatrización es el proceso normal que se presenta en los seres humanos para regenerar el tejido epidérmico y dérmico dañado y aunque existen muchos tipos de cicatrices la mayoría de ellos presentan una serie de eventos bioquímicos complejos. La duración de cualquier estadio o evento bioquímico varía según el tipo de herida, tratamiento, microbiología y otros factores fisiológicos; cuando un individuo sufre una herida (ruptura de un tejido intencional o accidental), se presentan para reparar el tejido dañado. Estos eventos se superponen entre sí temporalmente y son: etapa inflamatoria, etapa proliferativa, y fases de remodelación. (39) (48)

1.3.4.1. Fases de cicatrización.

a) Fase Inflamatoria

Se presenta inicialmente coagulación para obtener hemostasis (detención o estancamiento de la hemorragia), y son liberados varios factores para atraer las células que fagocitan los detritus (resultado de la descomposición de una masa sólida en partículas), bacterias y el tejido dañado, también se liberan factores causando la migración y división de las células que inician la fase proliferativa.

b) Fase Proliferativa

Se caracteriza por angiogénesis, depósito de colágeno, formación de tejido de granulación, epitelización y contracción de la herida. En la angiogénesis, nuevos vasos sanguíneos crecen a partir de las células endoteliales. En la formación de tejido de granulación y fibroplastia, los fibroblastos crecen y forman la nueva matriz extracelular por excretar colágeno y fibronectina, la cual es provisional.

c) Fase de Remodelación

En esta fase se produce la maduración y remodelación, el colágeno es remodelado y realineado a lo largo de las líneas de tensión; las células que ya no se requieren son removidas mediante la apoptosis.

La fase de maduración puede durar un año o más, dependiendo del tamaño y tipo de la herida durante la maduración, el colágeno (III) que es prevalente durante la proliferación, se degrada gradualmente y a cambio se deposita colágeno tipo I, que es más fuerte. Así, la fuerza tensil de la herida se incrementa a un 50% del tejido normal por los tres meses de la herida y al final alcanza una fuerza tensil hasta un 80% del tejido normal. Como la actividad se reduce, la cicatriz entonces, pierde su apariencia eritematosa ya que los vasos sanguíneos son removidos por apoptosis. (48)

TABLA No 1. FACTORES LOCALES O SISTÉMICOS QUE IMPIDEN LA NORMAL CICATRIZACIÓN DE UNA HERIDA

FACTORES QUE IMPIDEN LA CICATRIZACIÓN DE UNA HERIDA	
FACTORES LOCALES	FACTORES SISTÉMICOS
Inadecuada suplencia sanguínea	Edad avanzada e inmovilidad general
Tensión incrementada en la piel	Obesidad / Tabaquismo / Desnutrición
Pobre aposición quirúrgica	Deficiencia de vitaminas y elementos traza
Dehiscencia de la herida	Malignidad sistémica y enfermedad Terminal
Pobre drenaje venoso	Choque de cualquier etiología
Presencia de un cuerpo extraño	Quimioterapia y Radioterapia
Reacción a cuerpo extraño	Drogas inmunosupresoras/corticosteroides/anticoagulantes
Presencia continuada de micro-organismos	Desordenes hereditarios de los neutrófilos
Infección	Malacoplakia (actividad lesionada de los macrófagos)
Movilidad local excesiva tal como en una articulación	Deficiencia en la adhesión de leucocitos

FUENTE: studentBMJ, 2006

1.3.4.2. Tipos de cicatrización de las heridas.

La curación satisfactoria de una herida se produce por la cicatrización de la misma. Su tratamiento básico consistirá en afrontar por planos sus bordes y mantener este contacto en reposo el tiempo suficiente para que el organismo ponga en marcha el

fenómeno de cicatrización, que puede ser cierre primario, cierre secundario o por segunda intención y el cierre terciario o también llamado primario diferido. (15)

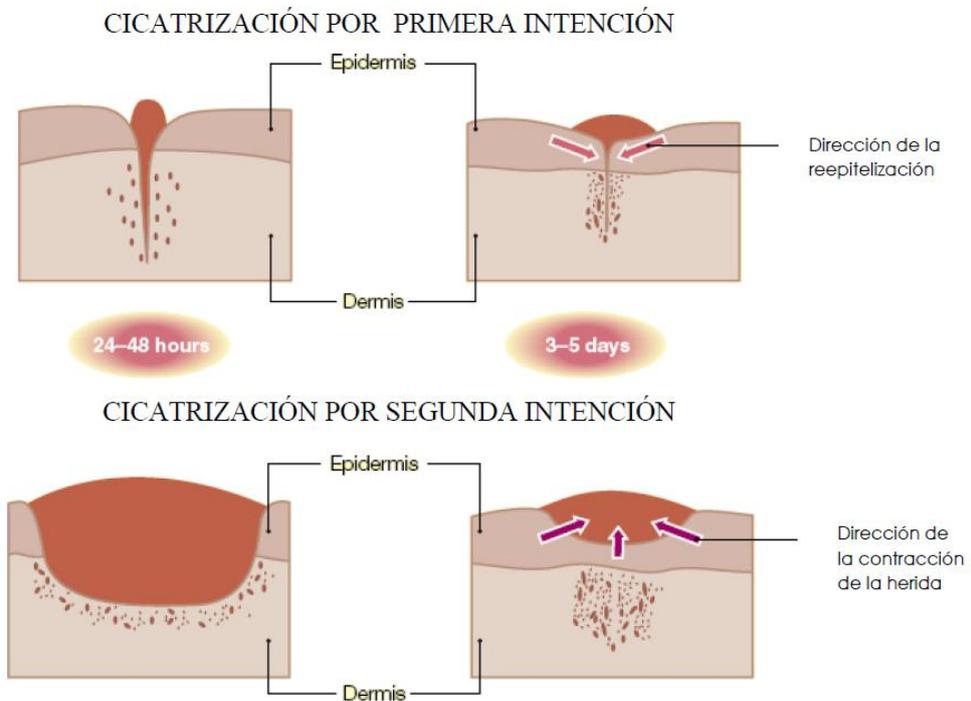


FIGURA 1. CICATRIZACIÓN POR PRIMERA Y SEGUNDA INTENSIÓN.

a) Cierre Primario o de Primera Intención

Es aquel en el cual una herida es cerrada dentro de horas de su producción en las primeras 24 horas. Es la manera ideal de tratar una herida; sin embargo, hay algunos factores que contraindican este cierre primario. Básicamente, la posibilidad importante de que la herida se infecte. La infección depende de varios factores entre los que se cuentan el huésped, la concentración bacteriana, la virulencia del germen infectante, etc. (39) (40) (48) (42)

b) Cierre por Segunda Intención

La cicatrización secundaria no incluye cierre formal de la herida; la herida cierra espontáneamente por contracción y reepitelización. Como es lógico, estas heridas

tardarán más para cicatrizar y la cicatriz será de mayor tamaño y por tanto menor estética. Típicamente, son las heridas con altísima probabilidad de infección o en las que ya existe una infección establecida (clara presencia de pus, como en los abscesos, la peritonitis, etc.). (48)(42)

c) **Cierre Terciario**

También conocido como cierre primario diferido, incluye desbridamiento inicial de la herida y curaciones por un período extendido en una herida que se deja abierta y luego al tiempo un cierre formal generalmente con suturas u otro mecanismo.

Incluye las heridas infectadas que no pudieron ser cerradas inicialmente y que cuando se ha controlado completamente el proceso infeccioso, se cierran intencionalmente. Es posible que este cierre requiera la resección de un poco del tejido de granulación para permitir el afrontamiento de los bordes y posterior cierre con hilos de sutura. (48)

1.3.5. CICATRIZANTES COMERCIALES

Los cicatrizantes son productos muy utilizados la mayoría de productos cicatrizantes en el mercado poseen un antibiótico en su formulación, además de otros productos como esteroides corticoides o antimicóticos, debido a que la presencia de bacterias en una herida retrasa el cierre de la misma. (39)

1.3.5.1. **Antibióticos y quimioterápicos para uso dermatológico.**

a) **Antibióticos**

El más utilizado en uso tópico es la neomicina, tiene una acción bactericida, inhibe la síntesis de proteínas bacterianas mediante su unión irreversible a la subunidad ribosómica 30 S de las bacterias susceptibles. (35)

El Acido Fusídico, está relacionado desde el punto de vista químico con la cefalosporina. Actúa inhibiendo la síntesis protéica aunque no se une al ribosoma, sino

que impide la translocación, paso final de la síntesis de cadenas peptídicas. (44)

Sulfadiazina de plata

Es un fármaco anti-infecciosos tópico que se utiliza para tratar y prevenir infecciones de heridas y quemaduras de segundo y tercer grado. El mecanismo exacto de su actividad anti-infecciosa no es conocido. Parece ser que la sulfadiazina de plata ocasiona la lisis de las bacterias al atacar la membrana y la pared celular. (68) (35)

b) Preparados dermatológicos con corticoides

Todos los corticoides tópicos derivan de la hidrocortisona o cortisol (sintetizada en 1952 por Sulzberger y Witten) sustancia con actividad glucocorticosteroide y mineralocorticosteroide. Sus efectos sobre la piel son múltiples: antiinflamatorio, vasoconstrictor, inmunosupresor y antiproliferativo. A partir de 1952 se ha realizado muchos cambios en la estructura para mejorar su perfil terapéutico (incrementar la penetrabilidad cutánea y la potencia, disminuyendo los efectos secundarios). Entre ellos tenemos hidrocortisona, betametasona, prednisolona. (3) (53) (35)

1.4. FARMACOLOGÍA DE LA DIARREA

La diarrea es un padecimiento muy común, es un problema nacional de salud pública en muchos países en vías de desarrollo; es una enfermedad que puede ser desde ligera hasta mortal; anualmente, es la causa de altos índices de morbilidad y de 4-5 millones de muertes en el mundo.

Aparte de las terapias médicas modernas, el uso de plantas medicinales en el tratamiento de las diarreas es una práctica frecuente en innumerables países, a nivel mundial existiendo alrededor de 319 plantas estudiadas correspondientes a 101 familias botánicas que presentan actividad antiespasmódica y/o antidiarréica. (1)

La forma de evidenciar el efecto antidiarréico de una especie vegetal incluye modelos experimentales *in vivo* e *in vitro*. La inhibición de la diarrea experimental y la reducción en la motilidad intestinal por una sustancia, son la base de la evaluación farmacológica de un potencial agente antidiarréico. (1)

1.4.1. CONTRACCIÓN DEL MÚSCULO LISO

Son varios los agonistas (neurotransmisores, hormonas y otros) que se unen a receptores específicos y activan la contracción del músculo liso. Subsecuentemente a esta unión, la respuesta de las células es incrementar la actividad de la fosfolipasa C acoplándose a proteína G. La fosfolipasa C produce dos potentes segundos mensajeros a partir del fosfatidilinositol 4, 5 bifosfato de la membrana: diacilglicerol (DG) e inositol 1,4,5 trifosfato (IP3). IP3 se une a receptores específicos en el retículo sarcoplásmico, originando liberación de calcio (Ca^{2+}). DG junto con el Ca^{2+} activa la proteína cinasa C (PKC), esta fosforila proteínas específicas. En la mayoría de los músculos lisos, PKC tiene efectos promotores de la contracción, tales como fosforilación en canales de calcio u otras proteínas que regulan el proceso cíclico. El Ca^{2+} se une a calmodulina provocando la activación de la cinasa de la cadena ligera de la miosina (MLC cinasa), la cual fosforila la cadena ligera de miosina, y junto con la actina llevan a cabo el proceso iniciando el acortamiento de la célula del músculo liso.

Sin embargo, la elevación en la concentración de calcio dentro de la célula es pasajera, y la respuesta contráctil es mantenida por un mecanismo sensibilizado por el Ca^{2+} proporcionado por la inhibición de la actividad de la miosina fosfatasa por Rho cinasa. Este mecanismo sensibilizado al Ca^{2+} es iniciado al mismo tiempo que la fosfolipasa C es activada, e involucra la activación de la pequeña proteína RhoA unida a GTP. La naturaleza precisa de la activación de RhoA por el receptor acoplado a proteína G no es completamente clara, pero involucra un factor de intercambio del nucleótido guanina (RhoGEF) y migración de RhoA a la membrana plasmática. Por encima de la activación, RhoA incrementa la actividad de la Rho-cinasa, conduciendo a la inhibición de la miosina fosfatasa. Esto fomenta el estado contráctil, ya que la cadena ligera de miosina no puede ser desfosforilada. (24)

1.4.2. RELAJACIÓN DEL MÚSCULO LISO

La relajación del músculo liso se da como resultado de remover los estímulos contráctiles o por acción directa de una sustancia que estimule la inhibición del

mecanismo contráctil. De cualquier manera, el proceso de relajación requiere una disminución de la concentración de Ca^{2+} intracelular, y un incremento en la actividad de la MLC fosfatasa. El retículo sarcoplasmático y la membrana plasmática contienen Ca, MgATPasas que remueven el Ca^{2+} del citosol. Intercambiadores $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ están también localizados sobre la membrana plasmática y ayudan a la disminución de Ca^{2+} intracelular. Durante la relajación, los canales operados por voltaje y receptores de calcio en la membrana plasmática se cierran, lo que conduce a restricción en la entrada de Ca^{2+} a la célula. (24)

1.4.3. INTESTINO DELGADO Y MOTILIDAD

El intestino delgado, se caracteriza por su gran área superficial debida a sus pliegues circulares, vellosidades y microvellosidades. Es la parte de mayor longitud del sistema GI (aproximadamente 5 m), alrededor de 5% de su longitud inicial corresponde al duodeno (caracterizado por la ausencia del mesenterio), enseguida se ubica el yeyuno (alrededor del 40% de longitud intestinal), y finaliza con el íleon. La absorción y digestión alimenticia más importante en el organismo, se realizan principalmente en duodeno y yeyuno. Los tipos principales de movimiento intestinal son dos: segmentación y peristaltismo.

El de *segmentación* es el más frecuente en el intestino delgado y consiste en contracciones de la capa muscular circular en zonas muy próximas (en el duodeno es de 11-12 contracciones por minuto y en el íleon de 8-9), esto provoca la división del intestino en segmentos pequeños. Cuando esa segmentación es rítmica, las contracciones son alternadas, es decir, un segmento se contrae y enseguida se relaja y así sucesivamente; este tipo de movimientos da como consecuencia un eficaz mezclado del quimo con las secreciones digestivas, y permite un óptimo contacto con la superficie mucosa intestinal. Normalmente se dan una serie de contracciones seguidas de un periodo de reposo.

El *peristaltismo* consiste en contracciones de secciones sucesivas del músculo liso circular, provocando el movimiento del contenido intestinal en forma anterógrada. El

movimiento peristáltico corto también tiene lugar en el intestino delgado pero con menor frecuencia que los movimientos de segmentación. Las ondas peristálticas raramente atraviesan más de 10 cm de intestino y, debido a la baja frecuencia de propulsión del quimo, es en esta zona donde preferentemente se efectúa la digestión y la absorción. La peristalsis se encuentra regulada sobre todo por la acción nerviosa del plexo mientérico en la pared intestinal, esto es, por el sistema nervioso regulador del propio aparato GI.

Es en el tracto GI donde se almacenan, digieren y absorben los nutrientes y se eliminan los desechos correspondientes. Las alteraciones en su funcionamiento pueden provocar reflujo, esofagitis, úlceras pépticas, trastornos estomacales, propulsión inadecuada del quimo y sólidos en el intestino delgado, colon y recto; diarrea, infecciones, inflamaciones, etc. (24)

1.4.4. DIARREA

Se define como el aumento en el número, volumen (>200g/día, excepto en personas que siguen una dieta rica en fibra) y fluidez de las deposiciones. Es un síntoma que expresa una alteración en la función intestinal (motilidad, absorción, secreción y/o digestión). Generalmente hay más de un mecanismo fisiopatológico implicado.

1.4.4.1. Aumento de la osmolaridad intestinal (diarrea osmótica)

Debido a la presencia de solutos poco absorbibles o no absorbidos en la luz intestinal, se crea un gradiente osmótico que favorece el paso de agua desde el compartimento vascular. Por tanto, es una diarrea rica en agua y pobre en sodio. Suele ceder con el ayuno.

Causas más frecuentes:

- a) Déficit de disacaridasas:
- b) Síndrome de mala absorción (enfermedad celiaca, giardiasis, sobre crecimiento bacteriano, ablipoproteinemia, linfangiectasia.
- c) Abuso de laxantes (lactulosa, sorbitol, polietilenglicol) o alimentos que contengan sorbitol, manitol o xilitol.

- d) Fármacos: antiácidos ricos en sulfato de magnesio, colchicina, colestiramina.
- e) Postcirugía: postgastrectomía, sección o bypass intestinal.
- f) Síndromes de mala digestión intestinal (insuficiencia pancreática exocrina...).

1.4.4.2. Diarrea secretora

Está producida por una disminución de la absorción y/o un aumento de la secreción intestinal. En general es una diarrea muy voluminosa, de baja osmolaridad (< 320) y con un contenido aumentado de electrolitos. No suele ceder con el ayuno. Una excepción a esta regla es la diarrea inducida por la acción del 10-hidroxiesteárico, secretagogo producido en la luz intestinal de pacientes que padecen mala absorción de ácidos grasos.

Principales causas:

- a) Exógenas (actúan estimulando segundos mensajeros intracelulares, como AMPc, GMPc, calcio o cinasas proteicas, que estimulan la secreción de cloruro sódico): Fármacos (quinidina, postaglandinas, teofilinas). Laxantes (aceite de ricino, antraquinonas, fenolftaleína). Enterotoxinas (*E.coli*, *V. cholerae*, *C. Perfringens*, *Shigella*, *virus Norwalk*, *rotavirus*).
- b) Endógenos existen algunas entre las que se encuentran la mala absorción de ácidos grasos, sobre crecimiento bacteriano, síndrome de mala absorción y mala digestión, adenoma vellosos gigante, tumores secretores de hormonas, neuropatía autonómica.

1.4.4.3. Alteración de la motilidad

- a) El peristaltismo intestinal aumentado teóricamente puede contribuir a la aparición de diarrea, al disminuir el tiempo de contacto del contenido gastrointestinal con la mucosa. Sin embargo, no está claramente determinado el papel que puede desempeñar el peristaltismo en el flujo de electrolitos y agua. Ejemplos: hipertiroidismo, carcinoma medular de tiroides, intestino irritable, resección ileocecal.

- b) Reducción del peristaltismo: permite la colonización intestinal por bacterias, alterándose la absorción, lo que da lugar a diarrea osmótica o secretora. Ejemplo: DM, esclerodermia, hipotiroidismo, pseudoobstrucción intestinal.

1.4.4.4. Diarrea inflamatoria o exudativa

Una inflamación o ulceración de la mucosa intestinal puede originar disminución de la absorción y paso de suero, hematíes, moco, proteínas y electrolitos a la luz intestinal. Suelen ser deposiciones frecuentes y poco voluminosas, mucosanguinolentas. Las causas más frecuentes son la colitis isquémica e infecciones por gérmenes entero invasivos (*Salmonella*, *Yersinia*, *Shigella*, *Campylo bacter*, *M. tuberculosis*, *Entamoeba histolytica* y *C. difficile*). (52)

1.5. MEDICAMENTOS USADOS PARA CONTROLAR LA DIARREA.

1.5.1. AGENTES ANTIDIARRÉICOS NO ESPECÍFICOS

Los agentes antidiarréico no específicos típicamente no están dirigidos al mecanismo etiopatogénico responsable de la diarrea, su utilidad principal es proveer alivio sintomático. Algunos medicamentos antidiarréico pueden ayudar a disminuir la cantidad de pérdida de agua y la frecuencia de las evacuaciones, aumentar la consistencia de las heces y acortar el curso clínico de la diarrea. (20)

Existe una amplia variedad de agentes antidiarréico disponibles en el mercado. Cerca de 400 productos de venta libre son promovidos en el mundo por sus propiedades anti diarreicas, pero muy pocos han demostrado su eficacia en estudios clínicos controlados y aleatorizados. Según el Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos del Ecuador, Novena Edición la loperamida (A07DA03) es un antipropulsivo usado para el alivio de la diarrea aguda no específica o diarrea crónica asociada con enfermedad inflamatoria intestinal. Manejo de ileostomías, colostomías u otras resecciones (para disminuir evacuaciones) (32).

Las propiedades y mecanismos de acción de los agentes antidiarréicos pueden ser abordados bajo los siguientes tópicos:

1.5.1.1. Antiperistálticos o antimotilidad

La mayoría de los agentes antiperistálticos disponibles actúan alterando la motilidad intestinal. Algunos también pudieran tener una ligera actividad proabsortiva o antisecretora. Su acción antidiarréica se debe a la activación de receptores situados en las terminaciones nerviosas de los plexos mientéricos, a lo largo de todo el tracto gastrointestinal, produciendo una inhibición de la liberación de neurotransmisores implicados en la regulación de la motilidad intestinal. Su acción también se debe, en mayor o menor medida, según su capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica, a su acción sobre el Sistema Nervioso Central. El resultado es un retraso en el vaciamiento gástrico y en el tránsito intestinal, por disminución del peristaltismo propulsivo. Este retraso aumenta el tiempo de contacto del contenido intestinal con la mucosa, permitiendo mayor absorción de agua y electrolitos, conduciendo a un aumento de la consistencia de las heces. Además tiene discreto efecto reductor de la secreción intestinal, sobre todo la provocada por la toxina del cólera, e impiden la liberación de prostaglandinas. Son útiles en la diarrea secretoria leve o moderada al disminuir la frecuencia y el volumen de las evacuaciones. Por ejemplo la loperamida, difenoxilato, atropina, pero el uso rutinario de los depresores del tránsito intestinal está contraindicado porque impiden la limpieza del intestino de la flora patógena. (52) (20)

1.5.1.2. Anticolinérgicos

Inhiben los receptores colinérgicos muscarínicos disminuyendo el peristaltismo. Estos agentes no son útiles para disminuir la frecuencia y el volumen de las evacuaciones, pero pudieran presentar algún valor en casos seleccionados para disminuir el dolor de los cólicos abdominales. Dosis altas de estos agentes pueden causar boca seca, retención urinaria, visión borrosa, palpitaciones, íleo y exacerbación de glaucoma, ejemplos de estos son los análogos de la somatostatina (lanreotida), clorpromazina y otras fenotiazinas, lidamicina e indometacina (20)(52)

1.5.1.3. Absorbentes

Teóricamente estos medicamentos absorben toxinas producidas por bacterias toxigénicas y actúan previniendo su adherencia a la membrana intestinal evitando así su

acción nociva sobre la mucosa. Para ser efectivos deben ser dados tan pronto como sea posible antes de que las toxinas se fijen a la mucosa intestinal. Estos agentes pueden incrementar la consistencia y disminuir la frecuencia de las evacuaciones, pero no pueden reducir la cantidad de líquidos perdidos. En este grupo tenemos por ejemplo al carbón activado, tanato de albúmina, caolín, pectina, gelatina y resinas de intercambio iónico. Los absorbentes no son efectivos en pacientes con diarrea sanguinolenta o acompañada de fiebre. (52)(20)(51)

1.5.1.4. Probióticos

Los probióticos son organismos no patogénicos que se multiplican en el intestino del paciente y produce metabolitos, los cuales incrementan la acidez de las heces y suprime el crecimiento de enteropatógenos. Un buen probiótico debe resistir los ataques, ser de origen humano y haber demostrado científicamente sus beneficios. Previenen la invasión de bacterias al tejido intestinal, producen ácidos de cadena corta que son benéficos para la recuperación del intestino, e incrementan el promedio de absorción de líquidos y electrolitos. Los probióticos como el *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus* o el *Saccharomyces boulardii* disminuyen la duración y la gravedad de la diarrea. (51)

1.5.1.5. Antisecretores

Actúan por una gran variedad de mecanismos diferentes lo que incluye la inhibición de prostaglandinas y efectos en el AMPc, inhibición de la calmodulina, de hormonas intestinales, de la encefalinasa de los canales de cloro. Este grupo de medicamentos es el más fisiológico y pudieran convertirse en los agentes ideales en la diarrea aguda, como la sulfasalacina loperamida. (20)

1.5.1.6. Medicina herbolaria

Existe un número enorme de medicinas herbolarias alrededor del mundo que se consideran efectivas en el tratamiento de la diarrea. Sin embargo, existe muy poca evidencia científica para apoyar o confirmar la eficacia de estos medicamentos, o si sus resultados están disponibles, la mayoría es inconclusa o anecdótica. (20)

1.5.2. AGENTES ANTIDIARRÉICOS ESPECÍFICOS

1.5.2.1. Antiinfecciosos (Antibióticos)

Un porcentaje considerable de diarreas tiene etiología viral (rotavirus, etc.) y la mayoría son autolimitadas, por lo que menos del 5% requiere antibióticos. Éstos no deben utilizarse de forma sistemática, puesto que aumentan la duración y la aparición de portadores crónicos.

Están indicados cuando existe evidencia o sospecha de infección bacteriana importante (fiebre elevada, heces sanguinolentas) que exige tratamiento específico o en pacientes considerados de alto riesgo por edad, enfermedad asociada, inmunodepresión o sintomatología sistémica extraintestinal importante.

Aunque se haya identificado el germen, no deben usarse antibióticos en los casos leves o en los graves que van autolimitándose a no ser que el germen lo exija. Se recomiendan como fármacos de primera elección las quinolonas (ciprofloxacino) o trimetoprim/sulfametoxazol. Además de tetraciclinas, ampicilina, amoxicilina, eritromicina, metronidazol, vancomicina y rifaximina. (51)

1.5.2.2. Potenciadores de la absorción intestinal.

Favorecen la absorción de sustancias eliminadas en exceso entre estos tenemos:

a) Sales de rehidratación oral

Están indicadas para reemplazar oralmente fluidos y sales electrolíticas en el tratamiento de la deshidratación causada por diarrea y vómitos para prevenir la deshidratación severa, mantener líquidos y electrolitos corporales antes de que una nutrición adecuada pueda restaurarlo.

La OMS indica utilizar las sales para rehidratación oral para la prevención y tratamiento por vía oral de la deshidratación leve y moderada debida a enfermedades diarreicas agudas de lactantes, niños y adultos.

b) Clonidina

Favorece la absorción e inhibición de la secreción intestinal, es útil en diarreas secretoras refractarias a otros tratamientos. (51) (66) (33)

1.6. FAMILIA APIACEAS

La familia *Apiaceae* incluye cerca de 3000 especies distribuidas preferentemente por las regiones templadas y subtropicales del hemisferio boreal. Se trata básicamente de plantas herbáceas, sólo algunas presentan porte arbustivo. El tallo, articulado en nudos y entrenudos, porta hojas alternas y en su mayoría divididas. Una de las características más sobresaliente de la familia es la inflorescencia en forma de umbela, simple o compuesta (una umbela con varias umbelas en cada extremo).

Las brácteas se encuentran en la base de la umbela formando un involucre, e igual ocurre con las umbélulas, formando el involucelo. La inflorescencia también puede adquirir la forma de capítulo, por acortamiento del pedúnculo de la umbela (*Eryngium*). Las flores son en su mayoría de color blanco, actinomorfas y con nectarios, y, generalmente bastante pequeñas.

La función vexilar se debe a la vuelta de la corola en su conjunto, por esto las flores periféricas pueden ser zigomorfas (unisexuales o estériles) desarrollando desproporcionadamente 1 ó 2 pétalos (*Tordylium apulum*).

El verticilo del cáliz queda reducido a 5 dienteillos y en algunos casos puede ser completamente inconspicuo. La corola, dialipétala, está formada por 5 pétalos, en algún caso bilobulados. El androceo está constituido por un verticilo de 5 estambres; el ovario, ínfero, bilocular, comprende 2 carpelos con 2 óvulos cada uno (de los cuáles uno está atrofiado), tiene dos estilos libres, divergentes, que en su parte basal están más o menos engrosados formando una estructura almohadillada (estilopodio), que persiste en el fruto. Son plantas generalmente aromáticas, herbáceas o subfruticosas, anuales o perennes. Esta familia comprende especies de gran importancia hortícola y medicinal. (45) (19)

***Anethum graveolens* L.**

Anethum graveolens L. (Eneldo) se ha utilizado en la medicina tradicional desde tiempos antiguos y es una hierba popular ampliamente utilizado como especia y también produce aceite esencial. Es una hierba aromática anual, de la familia *Apiaceae*. Los usos tradicionales de semillas de eneldo son carminativos, estomacales y diuréticos. (17)

Composición química

Los frutos de *Anethum graveolens* L. contienen:

- Aceite esencial (3-4%): carvona, limoneno, felandeno, eugenol, anetol, carveol, cariofileno; miristicina, cumarinas (escopoletina, esculetina, bergapteno, umbeliferona).
- Flavonoides derivados del kemferol.
- Ácidos fenólicos (ácido caféico, cloregénico).
- Ácidos grasos (10%-20%), fitosteroles (α -sitosterol). (5)

1.6.1. *Cyclosporum leptophyllum* (Pers.) Sprague

Son hierbas anuales introducidas de hasta 0,5 m de altura. Hojas descompuestas de 3,0 a 11,5 cm de largo, divisiones filiformes, peciolos con un grupo de pelos basalmente. Se las encuentra en las cordilleras del país, en elevaciones de 1.200 a 2.300 m. (7) Su información taxonómica se muestra en la TABLA No.2.

Posee inflorescencias en umbelas compuestas o simples, con 9 a 17 flores; pedúnculo hasta 1cm de largo o ausente; involucro e involucelo ausentes; pedicelos de 2 a 10 mm de largo; dientes del cáliz evidentes; pétalos blancos; ápice no inflexo y carpóforo bífido; frutos comprimidos lateralmente, con cinco costillas longitudinales y conspicuas, la cara de la semilla es plana.(7)

TABLA No. 2 INFORMACIÓN TAXONÓMICA DE *Cyclospermum leptophyllum*

INFORMACIÓN TAXONÓMICA	
Reino:	Plantae
Filo:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Apiales
Familia:	Apiaceae
Género	<i>Cyclospermum</i>
Nombre científico:	<i>Cyclospermum leptophyllum</i> (Pers.) Sprague

Fuente: Morales, J. F. Apiaceae. En: Hammel, B., M. Grayum, C. Herrera y N. Zamora (eds.).

Conocida también como apio silvestre, apio cimarrón, culantro de zopilote, apillo apiecillo, apio cimarrón, eneldo, culandrillo, (46) Tama tama (Píllaro-Tungurahua).



FOTOGRAFÍA No.1 *Cyclospermum leptophyllum*

Características especiales: Olor a apio o zanahoria al estrujarse. (46)

1.6.1.1. Distribución por tipo de clima

Se distribuye en climas templados y cálido-húmedos como Sudamérica: Colombia, Perú, Chile, Brasil, Paraguay, Uruguay, Argentina. Invasor en Europa, Sudáfrica, EE.UU., Taiwán, Australia, Egipto y Líbano. (46)(14)

1.6.1.2. Usos

Es usado en el tratamiento de la diarrea, indigestión, infecciones respiratorias es usado además como diurético, carminativo, cicatrizante y antiséptico. Las partes tiernas las usan para preparar bebidas frescas y alcohólicas. Las hojas pueden usarse como sustituto del perejil, pero a veces tienen sabor acre. Condimento para sopas, para acompañar el arroz, para bollitos fritos o para agregar a ensaladas. (46)(14)(38)

1.6.1.3. Animales de laboratorio

El avance del conocimiento biológico y el desarrollo de mejores medios para la protección de la salud y el bienestar, tanto del hombre como de los animales, requieren recurrir a la experimentación con animales vivos de una gran variedad de especies. Sin embargo estos trabajos deben realizarse considerando a los animales como seres sensibles, siendo un imperativo científico y ético su cuidado y uso apropiado evitando o minimizando el sufrimiento. (30) (8)

Estos animales son especies de vertebrados domésticos tradicionalmente usados como animales de experimentación. Capaces de dar una respuesta confiable y reproducible. Se tiende a que su homogeneidad somática, genética y sanitaria este controlada.

Todo animal usado en investigación debe ser tratado respetando Principios Éticos Internacionales para Investigación Biomédica con Animales –CIOM (Consejo Nacional De Organizaciones Médicas). (8)

1.6.2. *Mus musculus*

Los ratones empezaron a utilizarse en biomedicina a finales del siglo XIX por su pequeño tamaño, su fácil manejo, su variabilidad genética y su alta tasa reproductiva. En la actualidad existen más de 1000 cepas congénicas genéticamente definidas.

Algunas de estas cepas presentan características anatómicas y fisiológicas específicas, que les confieren propiedades de modelo experimental. Se utilizan en la investigación sobre el cáncer, nuevos fármacos, toxicidad de productos, preparación de vacunas y producción de anticuerpos poli y monoclonales. Entre las cepas más usadas se pueden destacar: Ratones Swiss y NMR1: cepas no consanguíneas usadas en farmacología y toxicología.

- Ratones Balb/c: cepa consanguínea usada en la producción de anticuerpos.
- Ratones C57BL6, C3H: cepas consanguíneas usadas como base en líneas modificadas genéticamente.
- Ratones inmunosuprimidos. (64)

1.6.2.1. Morfología

De adultos pesan entre 15 y 40g, y miden entre 15 y 20cm, incluyendo la cola, que supone algo más de la mitad de su longitud. De pelaje corto, poseen vibrisas (largos bigotes) que son sensibles al tacto y le proporcionan información sobre el medio. Son animales nocturnos de poca visión en colores, la audición y olfato son muy desarrollados, sus receptores táctiles son la cabeza, bigotes, patas y cola esta última es importante en la termorregulación y el equilibrio.(64)(36)

1.6.3. *Oryctolagus cuniculus*

El conejo de laboratorio *Oryctolagus cuniculus*, es uno de los animales más importantes utilizados en experiencias biomédicas, en muchas áreas especializadas de la investigación científica. El conocimiento y el aprovechamiento de técnicas y prácticas especiales de medicina veterinaria y zootécnica son necesarios para la obtención de los mejores resultados posibles de este animal valioso y útil. (16)

Uso en investigaciones biomédicas.

A pesar de que no se tiene referencias respecto a las tentativas para utilizar conejos como animales de laboratorio, aparecen informes esporádicos del siglo XIX. Se lo usa actualmente en investigación de enfermedades infecciosas, inmunología, investigaciones de enfermedades parasitarias y genética, es usado además en estudios fisiológicos, de nutrición, reproducción, embriología, además se considera al conejo como el animal óptimo para investigación oftálmica entre otros. (16)

1.6.3.1. Morfología

El conejo común o conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*) es un mamífero del orden Lagomorpha que se caracteriza por tener un cuerpo cubierto de un pelaje espeso y lanudo, de color blanco, negro, pardo pálido, gris. Tienen un peso alrededor de entre 4 y 5,5 kg y miden alrededor de 33 a 40 cm cuando son adultos; su cuerpo bien redondeado; rostros delgados de mejillas redonda; cabeza ovalada y ojos grandes; orejas largas de hasta 7 cm y una cola muy corta, sus patas anteriores son más cortas que las posteriores.

A diferencia de la gruesa piel de sus cuerpos, sus orejas tienen pelo más corto que permite que el delicado color rosa pálido se pueda mostrar a través de él. La característica más notable son sus ojos brillantes, que van a la sombra de color rosa pálido a rojo rubí brillante. Ligera papada en las hembras. (16)(43)(65)(49)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.

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

Laboratorio de Fitoquímica Y Farmacología.

Bioterio de la Facultad de Ciencias.

Laboratorio de Microbiología Aplicada- Facultad de Ciencias.

Habitación adecuada para experimentación en Lizarzaburo y Camilo Egas – Riobamba.

2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. MATERIAL VEGETAL.

El vegetal *Cyclosporum leptophyllum* (Pers.) Sprague fue colectado en la comunidad de San José de Cruzñian de la parroquia San Miguelito de Píllaro en la provincia de Tungurahua (FIGURA No. 2) a una altura de 1700 m del nivel del mar, a una temperatura de 15 °C durante el mes de septiembre y octubre del año 2013. La identificación se realizó en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Los moradores del lugar reportan que *Cyclosporum leptophyllum* (Pers.) Sprague es utilizada como antidiarréica, antiespasmódico abdominal; esta la administran en forma de infusión.

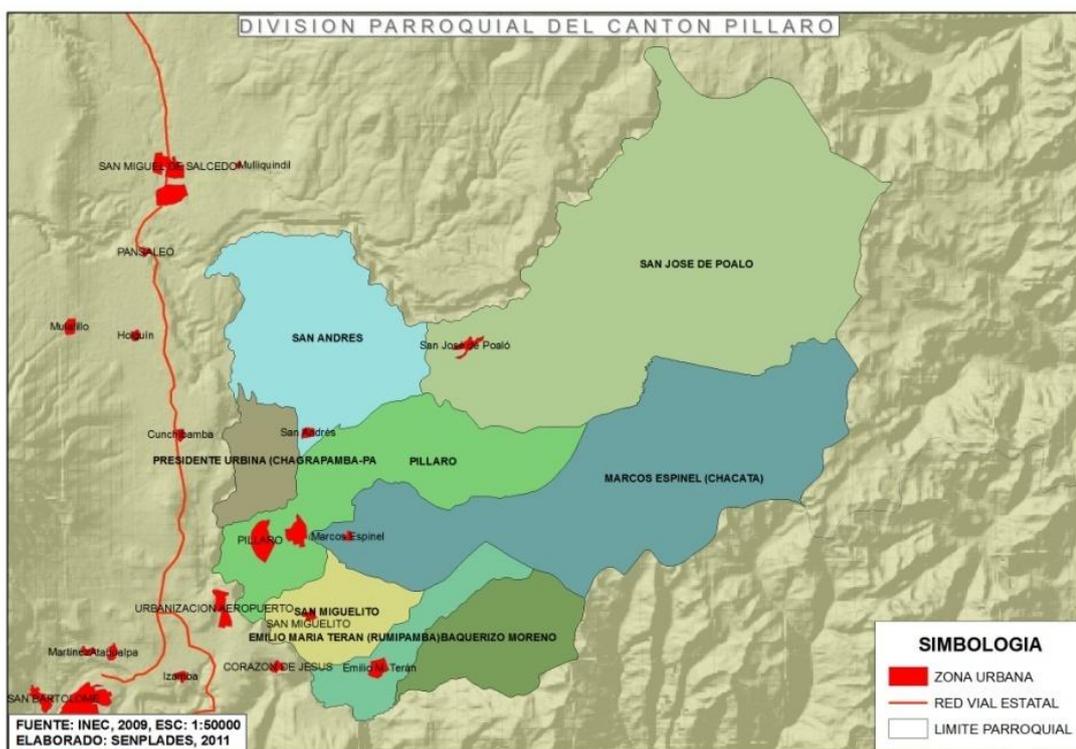


FIGURA No. 2. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE *Cyclosporum leptophyllum*. SAN MIGUELITO. (8)

2.2.2. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

2.2.2.1. Cicatrización: Conejos Albinos (*Oryctolagus cuniculus*)

Los animales de experimentación utilizados en este trabajo de investigación, corresponde a 16 conejos albinos (*Oryctolagus cuniculus*) (FOTOGRAFIA No.2) machos jóvenes (90 días de vida) con un peso entre de 1,5-2,0 kg los cuales fueron proporcionados por la granja "G&G" ubicada en San José de Cuzñian. Se los mantuvo con una dieta estándar de pellets para conejos y agua.

Los animales fueron tratados siguiendo las normas sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. (8)



FOTOGRAFÍA No 2: CONEJO ALBINO JOVEN (*Oryctolagus cuniculus*).

2.2.2.2. Antidiarréico: Ratones (*Mus musculus*)

Los animales utilizados en este trabajo de investigación, fueron 21 ratones (*Mus musculus*) jóvenes (5-6 semanas de edad) (FOTOGRAFÍA No.3) los cuales fueron proporcionadas por el Bioterio de la Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas.

Los animales fueron tratados siguiendo las normas sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. (8)



FOTOGRAFÍA No.3 RATÓN ALBINO MACHO JOVEN (*Mus musculus*).

2.2.3. MATERIAL FARMACOLÓGICO

Como control positivo para la experimentación de cicatrización se empleó LAMODERM® de laboratorios Lamosan ANEXO No.16, es una asociación corticoide-

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

Para las pruebas antidiarréicas se usó como control positivo la Loperamida ANEXO No. 17 indicada en el control de procesos diarreicos provocados por bacterias, virus y parásitos, así como en el proceso diarreico crónico asociado a enfermedad inflamatoria intestinal en adultos, la dosis máxima es de 16 mg por día en el adulto. (57) (59)

2.2.4. EQUIPOS

Rotavapor
Mufla
pH metro
Refractómetro

2.2.5. MATERIALES

Cápsulas de porcelana
Balones esmerilados
Balones aforados
Tubos de ensayo
Pipetas
Probetas
Picnómetro
Bisturí
Cánula para ratones

2.2.6. REACTIVOS

Alcohol potable 95%.

Reactivos para el tamizaje.

Agua destilada

2.3. METODOLOGÍA

2.3.1. COLECTA DE MATERIAL VEGETAL E IDENTIFICACIÓN.

El vegetal conocido como Tama Tama en la comunidad de San José de Cruzñian de la parroquia San Miguelito de Píllaro, fue colectado en cantidad suficiente para la obtención del extracto alcohólico, la infusión y las pruebas necesarias durante los meses de octubre y noviembre. Como la recolección se realizó en diferentes días se consideró la temperatura (15°C) el momento la obtención del vegetal.

Para la identificación se tomó una muestra que posee todas las estructuras del vegetal, se la secó y prensó de forma que la morfología de sus estructuras sean visibles. De forma que el espécimen pueda ser identificado en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.3.2. CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA VEGETAL

2.3.2.1. Determinación de humedad

Pérdidas por desecación.

Método de la estufa de aire.

Método gravimétrico (32)

2.3.2.2. Determinación de cenizas totales

Método de calcinación (32)

2.3.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

- Se colectó el vegetal en cantidad suficiente, se eliminó materias extrañas tales como piedras, otros vegetales y vegetal deteriorado.
- Se lavó con abundante agua, se introdujo en una solución de cloro 0.05% se dejó reposar durante 5 minutos y se enjuagó con agua destilada hasta eliminación total del cloro.
- En una superficie limpia y desinfectada con alcohol potable, se fraccionó finamente el vegetal.
- Se realizó la maceración de 1.8Kg de vegetal fresco en 7, 5L de alcohol potable a (95%), en un frasco de cristal de boca ancha, sin presencia de luz y a una temperatura 18 ± 2 °C, durante 72 horas. Se filtró, el filtrado se concentró a un octavo de su volumen (0,9375L) en el rotavapor a una temperatura de 80 °C, se dejó en reposo por 12h luego de este periodo se sedimentaron las clorofilas las cuales se eliminaron. La solución clara constituye el extracto alcohólico para el análisis

2.3.4. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO

2.3.4.1. **Determinación de las Características Organolépticas.**

Colocar en un recipiente traslucido el extracto, evaluar el color, olor, sabor y turbidez.

(32)

2.3.4.2. **Determinación del pH.**

Preparar el pH metro, se lo introduce directamente en una alícuota del extracto.

Nota: Se debe considerar la temperatura al que se evalúa. (32)

2.3.4.3. **Determinación de la densidad relativa.**

Método del Picnómetro. (32)

2.3.4.4. Determinación del índice de refracción.

- Calibrar el refractómetro de Abbé con agua destilada.
- Colocar la muestra en el refractómetro y anotar el resultado. (32)

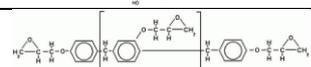
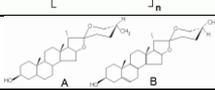
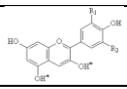
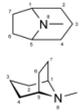
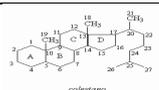
2.3.4.5. Determinación de sólidos totales.

Por método de la estufa de aire.

Método gravimétrico. (32)

2.3.4.6. Tamizaje fitoquímico.

El tamizaje fitoquímico que se realizó para evaluar los metabolitos secundarios del vegetal se llevó a cabo con las siguientes pruebas:

Ensayo	Grupo de compuestos	Estructura
Baljet	Cumarinas	
Catequinas	Catequinas	
Resinas	Resinas	
Ensayo de espuma	Saponinas	
Cloruro férrico	Taninos y fenoles	
Shinoda	Flavonoides	
Antocianidinas	Antocianidinas	
Dragendorff, Wagner, Mayer	Alcaloides	
Liebermann Burchard	Triterpenos y esteroides	
Borntrager	Quinonas	
Sudan III	Aceites esenciales	
Fehling	Azúcares reductores	

2.3.4.7. Cromatografía

El extracto se analizó por cromatografía de capa fina utilizando placas de sílica gel (TLC Sílica Gel de Merck) como fase estacionaria y como fase móvil mezclas de solventes (acetato de etilo y metanol). Se usó como revelador usando la solución de vainillina, ácido sulfúrico como revelador sulfato de cerio. El análisis se centró en la identificación de flavonoides.

Constantes R_f

La constante RF (Ratio of Front) es simplemente una manera de expresar la posición de un compuesto sobre una placa como una fracción decimal, mide la retención de un componente. Se define como: (50)

$$R_F = \frac{\text{distancia recorrida desde el origen por el compuesto}}{\text{distancia recorrida desde el origen por el frente del eluyente}} = \frac{X}{Y}$$

2.4. PREPARACIÓN DE LA INFUSIÓN.

Se pesaron 20g de vegetal fresco lavado con abundante agua corrida y posterior enjuague con agua destilada, se llevó ebullición 200 mL de agua y se colocó vegetal, se tapó, apagó y dejó reposar 10 minutos. Esta solución se administró a los ratones para la evaluación de la actividad antidiarréica. (32)

2.5. EVALUACIÓN DE ACTIVIDADES FARMACOLÓGICAS

2.5.1. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO. PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDA POR ESCISIÓN. (PFC001) (Anexo No. 2)

2.5.1.1. Aclimatación

Para evaluar la actividad cicatrizante se realizó procedimientos *in vivo* utilizando 16 conejos (*Oryctologus cuniculus*) de 3 meses aproximadamente y de 1000g peso promedio. Se los alojó en una habitación previamente esterilizada con cloro al 10 % en agua en piso y paredes en jaulas individuales, sobre piso en mallados con acceso libre al alimento y al agua, bajo condiciones controladas de temperatura (21 ± 2 °C) y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad con ventilación suficiente durante 5 días.

Fueron alimentados con una dieta de 100g diarios de Pro cuyes y conejos de PRONACA (crecimiento) por kilogramo peso del conejo cuya composición se describe en la TABLA No. 3 y agua *ad libitum*.

TABLA No.3 COMPOSICIÓN DEL ALIMENTO DE LOS CONEJOS DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN (PRONACA)

Producto	Análisis Garantizado		Indicaciones Conejos
	Proteína	Grasas	
PROCUYES Y CONEJOS ENGORDE	15.0%	4.0%	A partir de los 71 días hasta edad/peso de mercado

FUENTE: PRONACA (60)

Adecuación del macro ambiente

Se realizó un análisis microbiológico del ambiente de la habitación experimental para saber la cantidad de microorganismos presentes en el área con la técnica de

sedimentación por gravedad. Se tomaron muestras del aire en cajas petri con agar sangre y agar eosina azul de metileno; estas se las colocaron sobre, las esquinas, extremos, la mesa y el centro de la habitación.

Se encontró una densidad aerobios mesófilos de 168 Ufc/cm²/h (CUADRO No.1) datos que son similares a los obtenidos del Bioterio de la Facultad de Ciencias en estudios realizados por Verónica Buenaño en el 2012 en las que se muestra que una densidad aerobia mesófila de 185-165 Ufc/cm². No se encontraron enterobacterias al igual que en el estudio antes mencionado lo que es favorable para la experimentación ya que estas son causa frecuente de las infecciones de heridas.

CUADRO No. 1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL HABITAD DE LOS CONEJOS. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA APLICADA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Sitio de muestreo	AGAR SANGRE Número de Ufc/m²	AGAR E.A.M Número de Ufc/m²
Esquina derecha	198	0
Esquina izquierda	156	0
Centro de la habitación	162	0
Mesa de suplementos	186	0
Extremo derecho	138	0
Extremo izquierdo	168	0
Media	168 Ufc/m ²	0

Además se puede observar que la variación de unidades formadoras de colonias no es elevada.

2.5.1.2. Definición de los grupos para evaluar la actividad cicatrizante.

El grupo G1 es uno de los grupos investigativos a los cuales se les indujo la patología y posteriormente se les administró el extracto al 100 % por vía tópica; consta

de 5 animales experimentales los cuales tuvieron un espacio individual durante su estadía.

El grupo G2 corresponde al segundo grupo investigativo formado por 5 animales a los cuales se les indujo la patología y se les administro el extracto al 50 % por vía tópica; estos se mantuvieron en espacios individuales durante el estudio.

El grupo G3 corresponde al control positivo; se les indujo la patología y posteriormente se administró el medicamento comercial (Lamoderm®) por vía tópica; para el estudio se usó 3 animales en jaulas individuales.

El grupo G4 corresponde al control negativo; a estos se les indujo la patología mas no tratamiento alguno es decir no se le administró el vegetal en estudio ni ningún otro agente que pueda ayudar en el proceso de curación; se usó 3 animales los que estuvieron en espacios individuales al igual que los grupos anteriores. Esto se resume en la TABLA No.4.

TABLA No. 4 DEFINICIÓN DE LOS GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN PARA CICATRIZACIÓN.

CÓDIGO	GRUPO	TRATAMIENTO (Vía Tópica)	NUMERO DE ANIMALES
G1	Grupo investigativo 1	Patología + extracto de <i>Cyclopermum leptophyllum</i> al 100%	5
G2	Grupo investigativo 2	Patología + extracto de <i>Cyclopermum leptophyllum</i> al 50%	5
G3	Control positivo	Patología + fármaco estándar Lamoderm® (acetato de prednisolona, sulfato de neomicina)	3
G4	Control negativo	Patología	3

2.5.1.3. Preparación del experimento.

- Los animales fueron pesados antes del experimento. Se realizó una incisión en el dorso del animal de la siguiente manera.

Se rasuró la mitad inferior del lomo del animal, luego de 6 horas se verificó que no existe irritación en la piel. Se administró lidocaína solución inyectable 2% (0,5mg/Kg) para anestesiárselas. Se marcó el área de incisión que se procuró sea una zona donde exista cierta cantidad de músculo y que además los animales no tengan acceso a la herida de forma que no interfieran en los resultados de cicatrización; para esto se realizó el corte en la zona que se encuentra entre del lomo y la grupa del conejo puntos 12 y 13 respectivamente según se muestra en la FIGURA No.3.

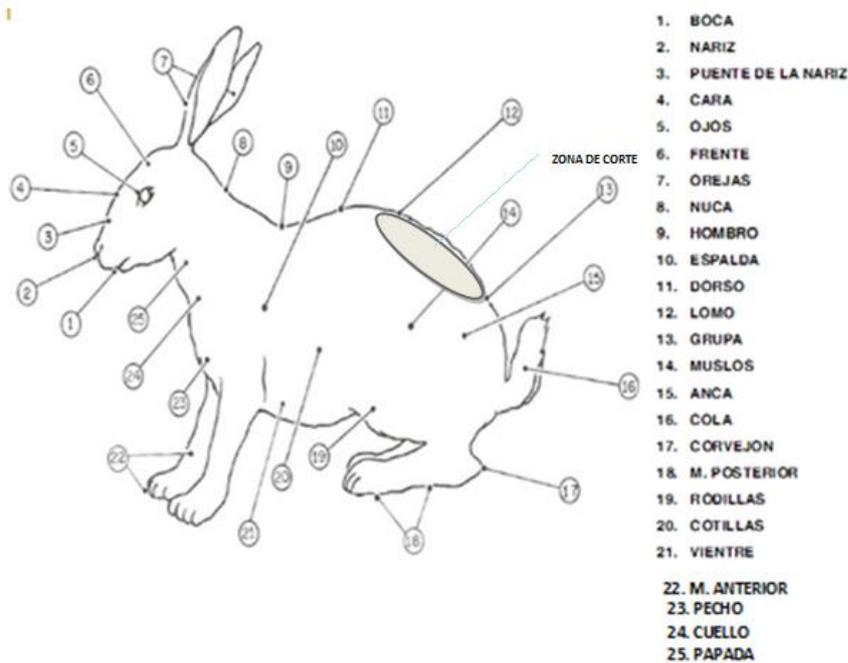
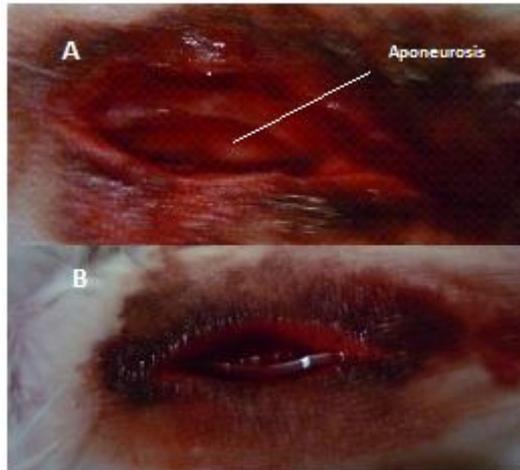


FIGURA No. 3 EXTERIOR DEL CONEJO. PARTES.

La escisión se realizó de aproximadamente 2 cm² de longitud y una profundidad de 0.3 cm, (llegando a la hipodermis antes de cortar la aponeurosis) (FOTOGRAFÍA No.4). Se realizó con una cuchilla quirúrgica de acero inoxidable y en condiciones asépticas. (21)



FOTOGRAFIA No. 4 INCISIÓN. EN LITERAL (A) SE PUEDEN OBSERVAR LA APONEUROSIS LUEGO DEL CORTE Y LAS ESTRUCTURAS DE LA PIEL AFECTADAS. EL (B) MUESTRA LA IMAGEN DESDE OTRA PERSPECTIVA, OBSERVÁNDOSE SUPERFICIALMENTE LA HERIDA.

2.5.1.4. Periodo de Investigación

Se dividieron aleatoriamente en 4 grupos para ser administrados tópicamente los diferentes tratamientos luego de 12 horas de realizada la incisión. Durante el tiempo de investigación la administración se realizó cada 24 horas en cantidad suficiente de manera que el extracto así como la crema cubrieran la herida por completo.

2.5.1.5. Evaluación

Se realizó la medición diaria de la longitud y el ancho del corte de la herida. Además se evaluó las características sensoriales de la herida y el tiempo de cicatrización de las mismas.

2.5.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIDIARRÉICA DE LA INFUSIÓN DE LA PARTE AÉREA DE LA PLANTA. PROTOCOLO FARMACOLÓGICO ANTIDIARRÉICO (PFA001) (Anexo No. 1)

2.5.2.1. Aclimatación

La determinación de la actividad antidiarréica se realizó empleando procedimientos *in vivo* utilizando 21 ratones (*Mus musculus*), de 30 – 40g. Proporcionadas por el Bioterio de la Universidad Central del Ecuador. Se los estandarizó a las mismas condiciones ambientales y de alimentación de acuerdo al protocolo de investigación en el Bioterio de la ESPOCH. A una temperatura de 22 ± 2 °C, a una humedad relativa de $40\% \pm 10$ con un periodo de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad en espacios individuales. Se las alimentó con 5g/día/ratón pellet y agua *ad libitum*.

2.5.2.2. Periodo de investigación

Diarrea inducida con aceite de ricino

Se definieron al azar los animales de cada grupo para evaluar la actividad antidiarréica; los 4 grupos están formados de un número determinado de animales y los cuales estuvieron alojados individualmente sobre papel aluminio previamente pesado de la siguiente manera:

El primer grupo investigativo (grupo T1) estuvo formando por 4 animales. A los cuales se le administró 1mL de la infusión de *Cyclospermum leptophyllum* por cada 30g de peso del ratón a investigar a una concentración del 10%; es decir una infusión del 10% del vegetal en agua destilada y se lo evaluó al inducirle la patología con aceite de ricino.

El grupo T2 es el grupo investigativo número dos al cual se le administró 1 mL de la infusión a la mitad de la concentración (5%) y se la evaluó al inducir la patología con aceite de ricino. Este grupo está formado de 4 animales.

El grupo T3 es el control positivo al que fue administrado 0.00686 mg de Loperamida disuelta en 1mL de agua por cada 30g de peso del ratón, la cual tiene actividad antidiarréica comprobada y se la evaluó al inducir la patología con aceite de ricino. Este grupo está formado de 3 animales y sirvió para comparar los resultados de la infusión y del control negativo.

El grupo T4 a este grupo únicamente se le indujo la patología con aceite de ricino y no se le administró tratamiento, sino únicamente agua en la misma cantidad de la infusión. Este grupo de 4 animales y nos sirvió para comparar la reacción del agente diarréico al no administrarse ningún tratamiento.

El grupo B es el blanco a este no se le indujo la patología ni se le administró tratamiento. Este nos ayudó a determinar las características normales de las heces y la frecuencia. Para esto se usaron 3 animales.

El grupo T5 está formado de 4 animales de experimentación los cuales sirvieron para el análisis toxicológico.

Los tratamientos y los grupos se pueden observar en la TABLA No.5. Cabe mencionar que la alimentación fue estandarizada de forma que el momento de la investigación, todos los ratones hayan consumido la misma cantidad de alimento descrita en la aclimatación.

TABLA No. 5 DEFINICIÓN DE LOS GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN ANTIDIARRÉICA.

CÓDIGO	GRUPO	TRATAMIENTO (Vía Oral)	NUMERO DE ANIMALES
T1	Grupo investigativo 1	Patología + infusión de <i>C. leptophyllum</i> al 10%	4
T2	Grupo investigativo 2	Patología + infusión de <i>C. leptophyllum</i> al 5%	4
T3	Control positivo	Patología + Loperamida	3
T4	Control negativo	Patología	3

B	Blanco	Sin tratamiento	3
T5	Grupo investigativo 3	Evaluación toxicológica; infusión al 10%	4

Después de 30 min se administró 1ml aceite de ricino a todos los grupos experimentales. A partir de ese momento, se registró el tiempo y frecuencia de las evacuaciones así como las características físicas de las heces de cada ratón en momento de cada una de las deposiciones por un periodo de 6 h. (24) Se recoge la materia fecal en papel aluminio (previamente pesado) colocado en el piso de las jaulas de los ratones. (FOTOGRAFÍA No. 5)



FOTOGRAFÍA No. 5 RECOLECCIÓN DE HECES EN PAPEL ALUMINIO.

2.5.2.3. Evaluación

Las variables estudiadas son tiempo de aparición de la primera deposición, cantidad, y características físicas de las heces. Los resultados son codificados de la manera siguiente: porcentaje de los animales que reaccionan al tratamiento con ricino con la emisión de varias heces blandas o en el caso de una muy fuerte respuesta del % de animales que presentan diarrea, (heces completamente líquidas), haciendo eventualmente las correcciones aportadas por las series testigo. Las características físicas de las heces que se evalúan son la que se dan a conocer en la TABLA No. 6

TABLA No. 6 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS EVALUADAS DE LAS HECES.

CARACTERÍSTICA	ESPECIFICACIÓN
-----------------------	-----------------------

Color	Color que poseen las heces
Textura	Dura, blanda, semilíquida, líquida
Aspecto	Homogéneo, heterogéneo.
Otros	Presencia de sangre, moco etc.

2.5.3. ESTUDIOS DE TOXICIDAD AGUDA.

Se realizó la evaluación de toxicidad sistémica. La sistémica que se refiere a problemas relacionados con los efectos del medicamento como alteraciones de la fisiología, anatomía o química clínica que resulta de cambios patológicos en órganos distantes a los que se le administró el medicamento. Dentro de esta toxicidad se puede evaluar la toxicidad aguda o la de largo plazo en este caso. Se determinó por tanto toxicidad subaguda del extracto de acuerdo con las directrices de Adamaris Segovia. (22) (2)

PROTOCOLO TOXICOLÓGICO DE RATONES *Mus musculus* A LOS QUE SE LES ADMINISTRÓ LA INFUSIÓN DE *Cyclospermum leptophyllum*. (PT001)

Al grupo T5 se lo usó para evaluar la toxicidad del extracto al ser administrado durante 14 días consecutivos a la misma concentración y a la misma hora.

2.5.3.1. Aclimatación

Los 4 ratones albinos (30–35g) proporcionadas por el Bioterio de la Universidad Central del Ecuador se colocaron en cajas individuales, se los estandarizó a las mismas condiciones ambientales y de alimentación en el Bioterio de la ESPOCH. A una temperatura de 22 ± 2 °C, a una humedad relativa de $40\% \pm 10$ con un periodo de fotoluminencia de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad y una alimentación de 5g/día/ratón pellet y agua *ad libitum*.

A 3 de ellos se administró 2mL de la infusión de *Cyclospermum leptophyllum* (infusión al 10% en agua) por vía oral durante los 14 días, en la misma dosis y la misma hora; al animal restante se los utilizó como blanco para comparar el cambio de

comportamiento que pueden sufrir los ratones durante el tiempo de investigación, los resultados fueron anotados en una tabla. (ANEXO No. 3)

2.5.3.2. Evaluación Clínica

Para esto se realizó una inspección clínica diaria en la que se observó los cambios de comportamiento, signos y síntomas de toxicidad de los animales y mortalidad. La evaluación incluyó la relación que puede existir entre los ratones tratados con el blanco. Las observaciones están dirigidas a la determinación de signos y síntomas de toxicidad como: actividad general, grito, irritabilidad, respuesta al toque, huida, contorciones, enderezamiento, tono corporal, patas posteriores, convulsiones, lagrimación, micción, defecación, piloerección, el número de muertos durante la experimentación y el tiempo de ocurrencia de la misma. (ANEXO No.3).

El día 14 los animales fueron sometidos a eutanasia, se separaron los órganos hígado, riñones y estómago, se los evaluó con un estudio histopatológico macroscópica y microscópicamente. (28)(26)

2.5.3.3. Histopatológico

PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE RATONES *Mus musculus* A LOS QUE SE LES ADMINISTRÓ LA INFUSIÓN DE *Cyclosporum leptophyllum*. (Anexo No.4)

Se realizó la eutanasia de los ratones mediante la técnica de dislocación cervical (desnucamiento), se procedió a disección y se recuperó el estómago, hígado y riñón (derecho o izquierdo) de forma que estos no pierdan su integridad. De cada uno de ellos se toman los datos de peso, longitud y ancho y se los coloca en un recipiente con formol al 10%, codificado para cada ratón. Se llevó al laboratorio y se prepararon las muestras, muestras que fueron entregadas al laboratorio de histopatología para ser fijadas en el Laboratorio Histopatológico del Patólogo Oswaldo Duque.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA VEGETAL

Al vegetal fresco y limpio de impurezas se le realizó las pruebas en las que se determinó la humedad por el método gravimétrico, en la estufa de aire; las cenizas totales por el método de calcinación. En los que se obtuvo una humedad de 44,82% y unas cenizas totales de 11,40%. (CUADRO No. 2)

CUADRO No. 2 RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE *Cyclospermum leptophyllum* FRESCO. LABORATORIO DE FITOQUIMICA Y FARMACOLOGIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

CONTROL DEL VEGETAL FRESCO		
Humedad	44,82%	-----
Cenizas totales	11,40%	13%,
Cenizas insolubles	10,30%	12%
Cenizas solubles	6,21%	7%

Real Farmacopea Española

La humedad de 44,82% del vegetal fresco muestra que su estabilidad como tal es baja y corre el riesgo de ser afectada por microorganismos o insectos además que sus

principios activos pueden sufrir procesos de hidrólisis que afecten su inocuidad y estabilidad, es por esto que se debe realizar la maceración o el proceso que se desee en un tiempo de almacenamiento corto o aun mejor inmediatamente después de su lavado y desinfección.

Como se muestra en el CUADRO No.2 las cenizas totales tiene un valor de 11,40% siendo su límite máximo 13%, el porcentaje de cenizas solubles en agua corresponde a material de tipo orgánico siendo su límite máximo 7% y presentando en este caso 6,21%; las cenizas insolubles en ácido 10,30% está relacionadas con las sustancias minerales propias de la planta en las cuales predominan los derivados de potasio siendo su límite máximo 12%, estos valores se encuentran dentro de los límites establecidos por la Real Farmacopea Española. (54)

3.2.CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO.

El extracto que se obtuvo se presentó como una solución translúcida de color anaranjado, olor agradable y aromático (FOTOGRAFÍA No.6). Este extracto fue sometido a las diferentes pruebas para su control de calidad siendo estas físicas y químicas.



FOTOGRAFÍA No. 6 EXTRACTO ETANÓLICO

3.2.1. PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS

3.2.1.1. Físicas-químicas

Las pruebas realizadas en el laboratorio de Fitoquímica y Farmacología de la Facultad de Ciencias muestran que el extracto obtenido de la maceración, concentración

y eliminación de clorofilas posee un pH de 5,45, densidad de 0,4903, índice de refracción de 1,349 y 20,975% de sólidos totales (CUADRO No. 3).

CUADRO No. 3 RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Cyclospermum leptophyllum* (VEGETAL FRESCO). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA Y FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Pruebas físico-químicas	
Ph	5,45 (25°C)
Densidad relativa	0,4903g/ml
Índice de refracción	1,349
Sólidos totales	20,975%

El pH que presenta el extracto es conveniente para la actividad cicatrizante, puesto que presenta un pH de 5,45 (CUADRO No. 3) el cual es similar al pH de la piel que está entre 4,5 y 5,9 en su superficie lo que es favorable para la cicatrización de las heridas al no afectar el pH de la piel y sus características fisiológicas, evitando también la proliferación de microorganismos (bacterias) en la herida y facilitando la cicatrización. Además de ésta característica que facilita la actividad farmacológica del extracto tenemos que su pH brinda estabilidad al extracto por dicha cualidad ácida, debido a los compuestos fenólicos.

La densidad relativa así como el índice de refracción son características propias del extracto. Los sólidos totales (CUADRO No. 3) corresponden a la fracción sólida del extracto en la cual se encuentran los principios activos, minerales y otras sustancias no volátiles. Estos sólidos se encuentran en una concentración elevada y esta característica probablemente brinda estabilidad al extracto.

3.2.2. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico realizado para la identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto etanólico se realizaron en el laboratorio de Fitoquímica y

Farmacología de la Facultad de Ciencias usando los reactivos necesarios para cada uno de ellos, resultados que se observan en el CUADRO No.4.

CUADRO No. 4 RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Cyclospermum leptophyllum* (VEGETAL FRESCO). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA Y FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Ensayo	Resultado
Baljet	-
Catequinas	+
Resinas	-
Ensayo de espuma	+++
Cloruro férrico	+++
Shinoda	++
Antocianidinas	+
Dragendorff	-
Wagner	-
Mayer	-
Liebermann burchard	-
Borntrager	-
Sudan III	++
Fehling	++
Al Tacto	-

(+) Baja evidencia

(++) Mediana evidencia

(+++) Alta evidencia

(-) No existe evidencia

Los metabolitos secundarios identificados mediante el tamizaje fitoquímico son las saponinas, taninos y flavonoides con una alta evidencia; azúcares reductores y aceites esenciales con mediana evidencia y antocianidinas junto con las catequinas presentan mínima evidencia. Datos que se relacionan con los de la bibliografía que expresan que *Anethum graveolens* de la familia Apiaceae posee flavonoides en cantidades elevadas. De los cuales se relacionan con la las actividades farmacológicas que se le atribuye a este vegetal los taninos, los flavonoides y las saponinas. (5)

3.2.2.1. Taninos

Son sustancias complejas que no es posible clasificar dentro de una estructura química única. Son polifenólicos hidrosolubles no nitrogenados de origen vegetal, de peso molecular entre 500 y 3000, que además de dar las reacciones clásicas de los fenoles, precipitan gelatina, sales de alcaloides y metales pesados. Los hay hidrolizables y condensados.

Los taninos se encuentran principalmente en las raíces, la corteza, y de vez en cuando en las hojas de la planta. Estos compuestos tienen propiedades antibacterianas, astringentes y antisépticas. Por estas razones los taninos, se relacionan con la actividad cicatrizante ya que poseen propiedades astringentes, vasoconstrictoras y antiinflamatorias por lo que aceleran la curación de heridas y hemostática al detener el sangrado. La cicatrización se produce por la formación de las costras al unirse a las proteínas con los taninos y crear un medio "seco" que impide el desarrollo de las bacterias. Al constreñir los vasos sanguíneos ayudan a la coagulación de la sangre y por tanto contribuyen a la curación de las heridas. Además poseen actividad antibacteriana la cual se fundamenta en modificar el medio e impedir la proliferación de los microorganismos.

La actividad antidiarréica está definida por su acción astringente que ayuda en la detención de la diarrea, al contraer los tejidos y secar las secreciones ayudando a que el organismo pueda realizar deposiciones más secas. (69)(11)

3.2.2.2. Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos amarillos derivados de la fenil-benzo γ pirona o fenil-cromona. Se dan mucho en el reino vegetal, normalmente en forma de heterósidos. Existen 6 clases principales, las chalconas, flavonas, flavonoles, flavanoles, antocianidinas, taninos condensados, xantonas y las auronas. (11) (9)

En general son protectores capilares y venosos favoreciendo la correcta síntesis del colágeno. Entre otras destacan las siguientes: acción antioxidante, diuréticos (inhiben las fosfatasa renales), antiespasmódicos, hemostáticos con lo que contribuye con la formación del tapón plaquetario y tónicos de la circulación venosa. Además poseen actividades antiinflamatoria, analgésica, a nivel tópico, antimicrobiana las cuales contribuyen en la función cicatrizante que posee en vegetal. (58)

3.2.2.3. Saponinas

Las saponinas o saponósidos, son sustancias que tienen poder espumante en soluciones acuosas, naturales característica que fue considerada el momento de la identificación en el tamizaje fitoquímico y además son tensoactivos naturales. Muchas poseen propiedades hemolíticas (desintegración de los eritrocitos), resultando muy tóxicas inyectadas en sangre. La toxicidad se reduce administrándolas vía oral. (69)(60)

Entre las propiedades farmacológicas de las saponinas tenemos que relajan el intestino (como la violeta, gordolobo y saponaria) por lo que disminuye los movimientos peristálticos de este aumentando la disposición de líquidos y favoreciendo su absorción mejorando las características de las heces. En usos externos son analgésicas y cicatrizantes (como la hiedra).

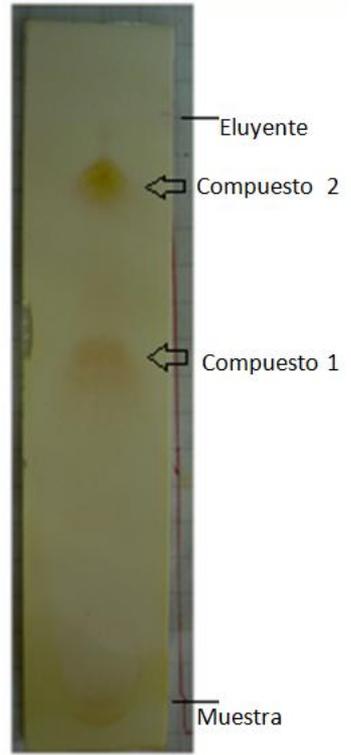
3.2.3. CROMATOGRAFÍA

3.2.3.1. Flavonoides

En la cromatografía de capa fina usando placas de sílica gel como fase estacionaria y como fase móvil mezclas de solventes (acetato de etilo y metanol) y la solución de sulfato de cerio como revelador. Se pudieron observar 2 manchas las cuales se presume son flavonoides la primera de color café con un R_f de 0,5125 lo cual nos hace considerar que los compuestos que posiblemente son ácido clorogénico, 6-acido hidroxiquinurénico, kaempferol, quercetina 3-o-(6 trans-p-coumaroyl -4-glucosyl) ramnósido que presenta R_f similares y la segunda de color amarillento con un R_f 0,8375 que nos indica que posiblemente se trata de ácido isoclorogénico o quercetina-3-O-arabinosa según sus R_f anotados por Wagner en el análisis de flavonoides. Resultado

que se muestran en el CUADRO No.5 metabolitos que además se relacionan con los presentes en la familia Apiaceae que presentan flavonoides, derivados del kaempferol, ácido caféico y ácido clorogénico.

CUADRO No. 5 RESULTADOS DE LA CROMATOGRAFÍA PARA FLAVONOIDES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Cyclospermum leptophyllum* (VEGETAL FRESCO). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA Y FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

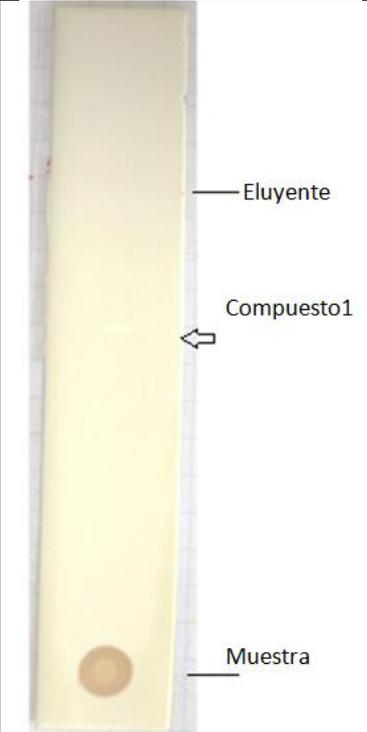
	Eluyente			
	Acetato de etilo: Metanol 8:6,5			
	Revelador			
	Sulfato de cerio			
	Puntos considerados	Distancias recorridas	Rf	Rf referencia
Eluyente	8 cm			
Compuesto 1	4,1 cm	0,5125	0,45-0,5	
Compuesto 2	6,7 cm	0,8375	0,75-0,9	
Compuestos posibles:				
Compuesto 1: Rf 0,45 ácido clorogénico; Rf 0,5 6-acido hidroxiquinurénico, kaempferol, quercetina 3-o-(6 trans-p-coumaroyl -4-glucosyl) ramnósido.				
Compuesto 2: Rf 0,75-0,95 Acido isoclorogénico; Rf 0,85 quercetina-3-O-arabinosa				

FUENTE: WAGNER 2ª EDICIÓN 1996

3.2.3.2. Saponinas

En la cromatografía de capa fina en sílica gel como fase estacionaria y trietil amina: cloroformo: tolueno (10:20:70) como fase móvil se pudo identificar una mancha blanca característica de las saponinas, y de un color azulado en el UV que presenta un Rf de 0,6969 lo que al comparar con los de referencia anotados por Wagner en el análisis de saponinas da a conocer que posiblemente se trata de monodesmosidos α -, β hederin.

CUADRO No. 6 RESULTADOS DE LA CROMATOGRAFÍA PARA SAPONINAS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Cyclospermum leptophyllum* (VEGETAL FRESCO). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA Y FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

	Eluyente			
	Trietil amina: cloroformo: tolueno (10:20:70)			
	Puntos considerados	Distancias recorridas	Rf	Rf referencia
	Eluyente	6.6 cm		
	Compuesto 1	4,6 cm	0,6969	0,7-0,8
Compuesto posible: Compuesto 3: 0,7-0,8 monodesmosides α -, β hederin				

FUENTE: WAGNER NOVENA 2ª EDICIÓN 1996

Las cromatografías del extracto etanólico de *Cyclospermum leptophyllum* nos indican que existen flavonoides que al parecer por su respectivo Rf corresponde a monodesmosides α -, β hederin. Pero para verificar exactamente los compuestos que posee la planta sería necesaria una espectroscopia UV-visible del extracto que considera la existencia de máximos y mínimos y la relación de alturas y en segundo lugar la longitud de onda de los máximos.(61)

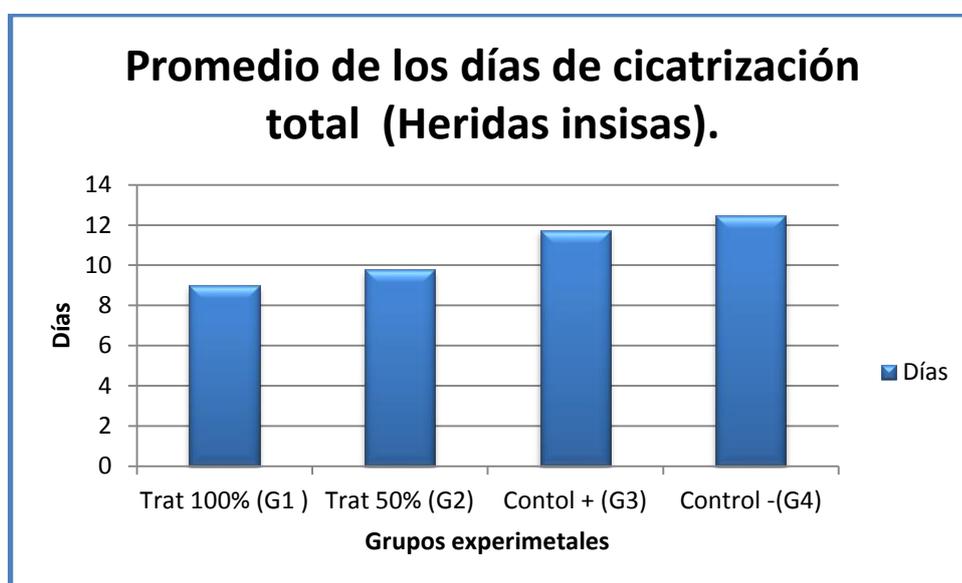
3.3. EVALUACIÓN *in vivo*

3.3.1. ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO

A las heridas se le administró por vía tópica los tratamientos según el grupo al que pertenecían. Se compararon individualmente las heridas los controles y de los tratamientos de cada grupo con el objetivo de encontrar la evolución de curación considerando la longitud y ancho de la herida y se consideró también la el tiempo de cicatrización.

3.3.1.1. Tiempo de cicatrización (Días).

El proceso de cicatrización ocurre en varios días dependiendo del tipo de tratamiento. Los días del tratamiento fueron los necesarios para que las heridas de cada animal pierdan costra y presenten una piel renovada.



Cada valor está dado como la media \pm desviación estándar de las observaciones evaluados por Test Anova y Test Tukey, $p < 0,05$.

GRÁFICO No.1. DÍAS DE CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS DE LOS CONEJOS. HABITACIÓN EXPERIMENTAL. LIZARZABURO Y CAMILO EGAS. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013

Como podemos ver el grupo G1 presenta una cicatrización completa en promedio de 9 días considerándose completa cuando la herida ha perdido la costra y los residuos de piel muerta formada durante el proceso, el grupo G2 un promedio de 9,8 días, el grupo G3 presenta 11,75 días y el grupo G4 12,5 días (GRÁFICO No.1). Los que nos da a conocer que el extracto al 100 y 50 % son eficaces en el proceso de cicatrización ya que disminuyen el tiempo de cicatrización.

Al comparar los resultados de los tratamientos experimentales y el control positivo (G3) con el control negativo (G4) en el G1 se observa que tiene una eficacia de cicatrización de un 28%, 21,6% en G2 y 12% el grupo G3 con relación al control negativo. (CUADRO No. 7) Lo que indica que los tratamientos con el extracto de *Cyclosporum leptophyllum* (G1y G2) son eficaces en el proceso de cicatrización en un 28%, 21,6 % respectivamente.

Al compararlo con el medicamento comercial la eficacia se presenta con un 23,7 y 16,9 en los grupos G1 Y G2 respectivamente. Por lo antes expuesto se puede decir que el medicamento cumple con las expectativas de cicatrización al ser más eficaces que el control negativo y el control positivo que es una combinación de antibiótico con corticoide pudiendo ser esta la razón por la cual los controles son iguales estadísticamente.

CUADRO No. 7 RESULTADOS DEL TIEMPO DE CICATRIZACIÓN TOTAL DE LA HERIDA. LABORATORIO EXPERIMENTAL. LIZARZABURO Y CAMILO EGAS. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

TIEMPO DE CICATRIZACIÓN TOTAL DE LA HERIDA			
Grupo	Media(Días)	% de eficiencia de cicatrización con relación al G4	% de eficiencia de cicatrización con relación al G3
G1	9 ± 0,43	28	23,7
G2	9,8 ± 0,92	21,6	16,9
G3	11,8 ± 0,50	12	
G4	12,5 ± 0,58		

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

Al analizar los datos mediante los test estadísticos Anova y Tukey, en el programa G-Start se muestra que las diferencias en los días de cicatrización son estadísticamente significativas, las diferencias se encuentran en los grupos de la siguiente manera:

Los grupos G3 y G4 son similares significativamente y diferentes para los otros grupos (G1 Y G2) para los cuales son mayores. Al ser estos iguales entre sí y diferentes para los grupos G1 y G2 nos da a conocer que estos dos últimos tienen menor tiempo de

cicatrización lo que indica que los tratamientos experimentales funcionan e incluso son más eficiente que el control positivo. (ANEXO No. 5)

La eficacia de los tratamientos experimentales se pueden discutir puesto que la diferencia entre estos puede deberse a varias situaciones, pues ambas presentan actividad farmacológica pero con variación de los días entre sí. Esta diferencia puede deberse a la diferencia de concentración del principio activo en los extractos, a la mayor actividad de agua del extracto de 50%, y a la humedad que esta pueda dar a la herida.

3.3.1.2. Variación diaria de longitud y ancho de la herida durante el tratamiento.

Las variaciones en la longitud y ancho de las heridas fueron tomadas diariamente durante los días la investigación, los cuales al finalizar se sacaron las medias y la desviación estándar de cada grupo experimental y se ajustaron en los diseños estadísticos Anova y Tukey aplicados en el programa G-Stat. Anexo No. 6 y Anexo No. 7 respectivamente. La disminución del tamaño de las cicatrices en cada grupo es mínima, como se puede observar en el CUADRO No. 8

CUADRO No. 8 RESULTADOS DE VARIACIÓN DE LONGITUD Y ANCHO DE LA HERIDA DURANTE EL TRATAMIENTO. LIZARZABURO Y CAMILO EGAS. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

VARIACIÓN DE CICATRIZACIÓN POR DIA (cm)		
	LARGO	ANCHO
G1	0,168 ± 0,18	0,039 ± 0,08
G2	0,173 ± 0,20	0,038 ± 0,12

G3	0,128 ± 0,22	0,021 ± 0,10
G4	0,157 ± 0,16	0,017 ± 0,06

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

Los datos obtenidos de la variación diaria de las heridas y de la variación cada tres días son similares entre los diferentes grupos por lo que al aplicar los métodos estadísticos de Anova y Tukey dan a conocer que no existe diferencia significativa entre los datos de variación de longitud o ancho de los diferentes grupos de experimentación. Es decir la cicatrización de las heridas es homogénea y disminuye significativamente igual en todos los grupos.

Por tanto la variación del tamaño de las heridas no es significativa y pero lo que sí es significativo son los días de total recuperación en el cual nuestro estudio se basa para afirmar que el extracto tiene actividad cicatrizante.

3.3.1.3. Cicatrices al final del tratamiento.

Al considerar el tamaño de la cicatriz con respecto al ancho y largo en el proceso de cicatrización, al final del tratamiento farmacológico se encontró que el grupo investigativo G1 redujo el tamaño de la cicatriz considerablemente, manteniéndose el ancho de la misma medida y variando su longitud durante la cicatrización, con una coloración normal, roja oscura, sin presencia de inflamación ni irritación durante el proceso de curación, la piel luego de todo el proceso de cicatrización presentó una coloración rosa pálido de una longitud promedio de 0,97cm y de un ancho de un promedio de 0,33 cm con ausencia de pelo y extremos regulares.

En el grupo investigativo G2 las heridas de los animales aumentaron su ancho y disminuyeron o mantuvieron su longitud sin presentar irritación ni inflamación con un color normal durante todo el proceso de cicatrización teniéndose una señal regular de color rosa pálido de 0,95 cm de largo y un ancho de 0,48cm libre de pelaje.

El grupo control G3 aumentó su ancho durante el primer y segundo día (a 6 mm) y la mantuvo hasta la completa cicatrización, presentando una coloración café claro durante el tiempo de cicatrización sin presencia de inflamación ni irritación. Al final de

la cicatrización se observó la piel libre de pelaje de coloración rosa pálido de una extensión de 1,33 cm de largo y un ancho de 0,43cm de extremos regulares.

El grupo control G4 presentó una cicatriz de filos irregulares, el primero y segundo día con proceso inflamatorio y coloración rojiza de la piel alrededor de la herida, las heridas mantuvieron su ancho pero su longitud fue variando durante la cicatrización, durante los días siguientes no se observó irritación, la cicatriz final tuvo bordes irregulares con un color rosa pálido libre de pelaje de una longitud de 1,38cm y un ancho de 0,35cm.

Al considerarlo frente al test estadístico de Anova y Fisher se encontró que existe diferencia significativa en la longitud de la herida al final del tratamiento siendo similares G1 y G2 presentando una cicatriz menor que los grupos controles G3 y G4. Con respecto al ancho no existe variación significativa entre los diferentes grupos. Esto se puede observar en el CUADRO No. 9

CUADRO No. 9 RESULTADOS DE CICATRICES AL FINAL DEL TRATAMIENTO. LABORATORIO EXPERIMENTAL. LIZARZABURO Y CAMILO EGAS. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

CICATRICES AL FINAL DE LOS TRATAMIENTOS		
Grupo	LARGO	ANCHO
G1	0,97 ± 0,25	0,33 ± 0,13
G2	0,95 ± 0,28	0,48 ± 0,32
G3	1,33 ± 0,22	0,43 ± 0,15

G4	1,38 ± 0,49	0,35 ± 0,06
-----------	-------------	-------------

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

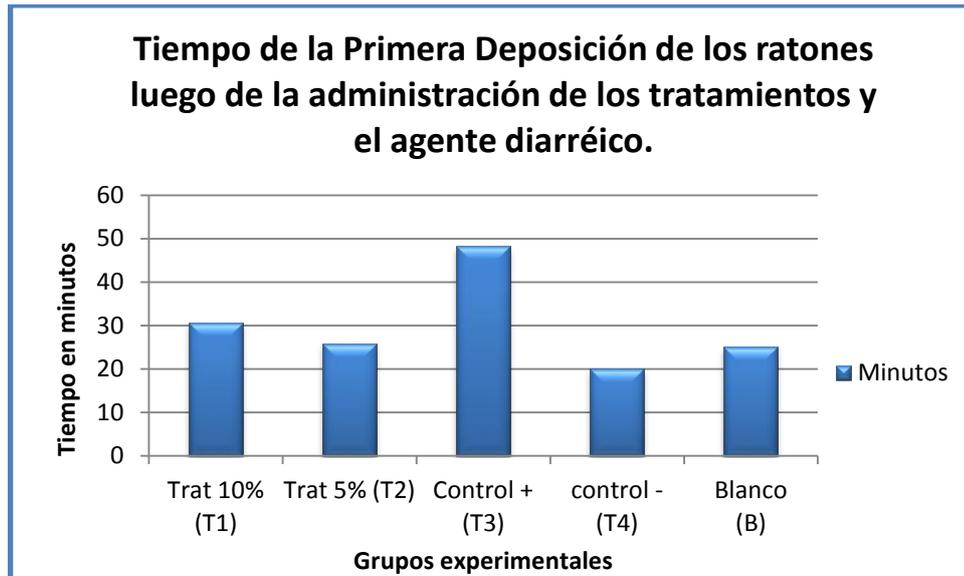
Al considerar la variación del tamaño de la herida diaria y la cicatriz al final del tratamiento con relación a los días cicatrización nos da a conocer que a pesar de que las variaciones fueron similares, las heridas del grupo G1 y G2 cicatrizaron en menor tiempo lo que indica que el proceso se realizó con mayor eficacia.

3.3.2. ACTIVIDAD ANTIDIARRÉICA DE LA INFUSIÓN DE *Cyclosporum leptophyllum*

La determinación de la actividad antidiarréica se realizó empleando procedimientos *in vivo* en ratones (*Mus musculus*), se los mantuvo en condiciones ambientales controladas y se les administró el tratamiento y la patología para investigar la actividad antidiarréica. Las variables estudiadas son tiempo de aparición de la primera deposición, y su frecuencia.

3.3.2.1. Tiempo de aparición de la primera deposición

La primera defecación luego de la administración del tratamiento y del agente diarréico se observó en el grupo T1 en un promedio de 30,63 minutos con unas heces blandas. En el grupo T2 se presentó 25,83 minutos luego de la administración del agente diarréico, con características normales (forma y tamaño). El grupo T3 al igual que el grupo dos presentó heces normales y en un tiempo de 48,25 minutos. El grupo T4 en cambio presentó heces entre normales y blandas al igual que el grupo T1 pero en un tiempo de 20 minutos y por último el grupo B, como no fue administrado nada, sus heces eran normales y se presentaron a los 25 minutos.



Cada valor está dado como la media \pm desviación estándar de las observaciones evaluados por Test Anova y Test Tukey, $p < 0,05$.

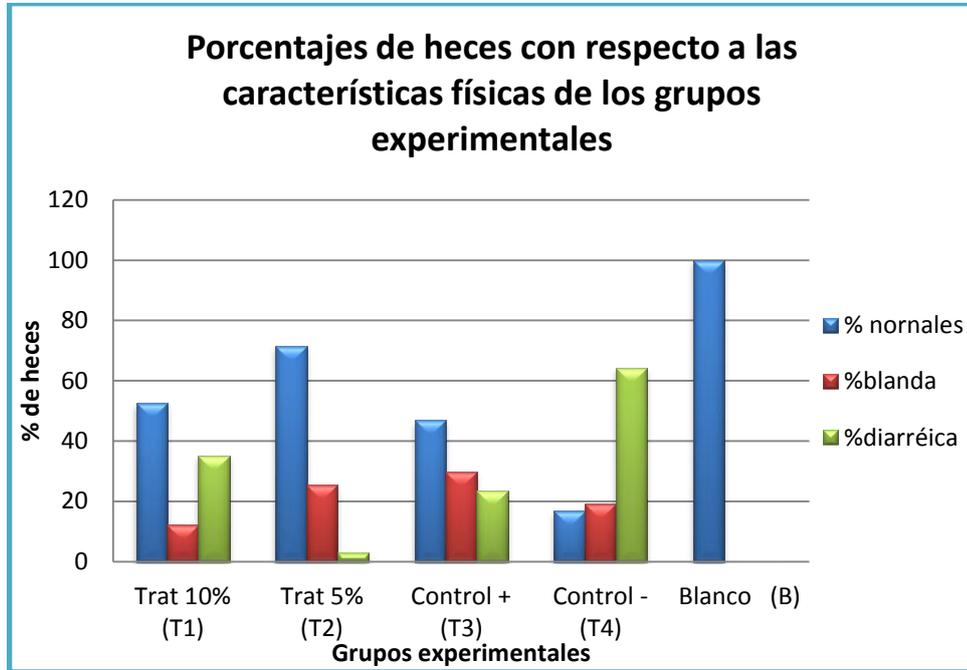
GRAFICO No.2 TIEMPO DE LA PRIMERA DEFECACIÓN LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO Y EL AGENTE DIARRÉICO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Como se puede muestra en el gráfico (GRAFICO No.3) existen diferencias en el tiempo de aparición de la primera defecación. Pero al tratar los datos estadísticamente con las pruebas de Anova y Tukey estas diferencias entre datos no son estadísticamente significativas por lo que la diferencia en el tiempo de defecación se considera que es igual entre todos los grupos.

3.3.2.2. Tipo de heces durante la experimentación

Las características físicas de las heces consideradas para la evaluación fue su estado físico, dividiéndola en diferentes grupos, como normales, blandas y diarréicas. Las cuales fueron tratadas y se muestran en la GRAFICA No.4. Donde nos indica que el blanco presenta heces únicamente normales y esto es obvio pues a este no se le administró ningún agente diarréico ni medicamento. El grupo del control negativo presenta un 64,29 % de heces diarréicas, un 19,05 % de heces blandas y un 16,67% de heces normales. El control positivo presenta un 23,4 % de heces diarréicas, un 29,79 % de heces blandas y un 46,81% de heces normales. El grupo tratamiento del 50 % presenta un 2,94% de heces diarréicas, un 25,49% de heces blandas y un 71,57% de

heces normales y en el tratamiento del 100 % presenta un 35,09% de heces diarreicas, un 12,28% de heces blandas y un 52,63% de heces normales. Los porcentajes de los diferentes grupos se resumen en la siguiente GRÁFICA No. 4



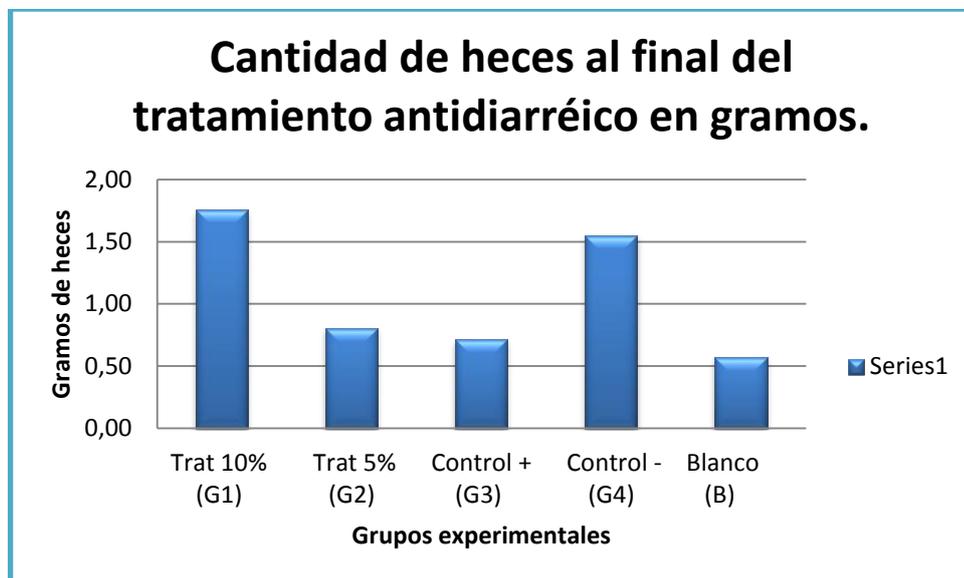
Cada valor está dado como la media \pm desviación estándar de las observaciones evaluados por Test Anova y Test Tukey, $p < 0,05$.

GRAFICA No.3 RESULTADOS DE PORCENTAJES DEL TIPO DE HECES QUE PRESENTA CADA GRUPO DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

El número de evacuaciones de los animales es diferente en cada grupo y al considerar su consistencia se observó que los grupos T2 y T3 son protectores contra la diarrea ya que la emisión de heces diarreicas es escasa y en su mayoría las heces tienen consistencia blanda lo que indica que la diarrea es controlada ya sea por disminución de la motilidad del intestino, o por la inhibición secreciones intestinales (24). En el grupo T1 se puede observar que las heces diarreicas son abundantes a pesar de tratarse de un grupo con tratamiento, esto puede deberse a la concentración del principio activo de la infusión (70) pudiendo ser esta muy elevada provocando una reacción de defensa para eliminar al metabolito, causándose la diarrea excesiva.

3.3.2.3. Peso de las heces

Fue considerado el peso de las heces de cada ratón de los cuales se obtuvo un promedio por cada grupo, los resultados se observan en la GRÁFICA No. 5; donde se muestra que en el grupo T1 se cuantificó 1,75g de heces entre normales, blandas y diarreicas; el grupo T2 presentó 0,81g de heces normales, diarreicas (escasas) que fueron sustituidas por blandas luego de un periodo de tiempo; el grupo T3 mostró heces entre normales, diarreica(escasas) y blandas que sustituyeron a las anteriores luego de un periodo de tiempo al igual que el grupo T2; el grupo T4 presentó una masa de 1,55g de heces que mostraron los 3 tipos de heces; el grupo B presento heces normales en una cantidad de 0,57g.



Cada valor está dado como la media \pm desviación estándar de las observaciones evaluados por Test Anova y Test Tukey, $p < 0,05$.

GRÁFICA No.4 PESO DE LAS HECES DESPUES DE LAS 6 HORAS DEL TRATAMIENTO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Luego de las seis horas de observación, la cantidad de heces de cada grupo es diferente, y esta diferencia es estadísticamente significativa al analizarlo con Anova y el test de Tukey, presentándose en el T1 mayor peso de heces y esto está directamente relacionado con el tipo de heces que este grupo mostró (heces diarreicas), por la cantidad agua, y el número elevado de deposiciones durante el periodo de investigación, e incluso sobrepasa la cantidad de heces del control negativo (T4). A pesar de que los grupos T2, T3 presentan una cantidad superior a la del blanco (B) estos tres son

significativamente iguales, es decir estos dos tratamientos son eficaces en el tratamiento de la diarrea; considerando al grupo T3 esto es predecible puesto que se trata del medicamento de actividad comprobada (Loperamida), y en el caso de grupo T2 con este resultado no da a conocer que *Cyclosporum leptophyllum* posee una actividad antidiarréica en una concentración de la infusión del 50 %.

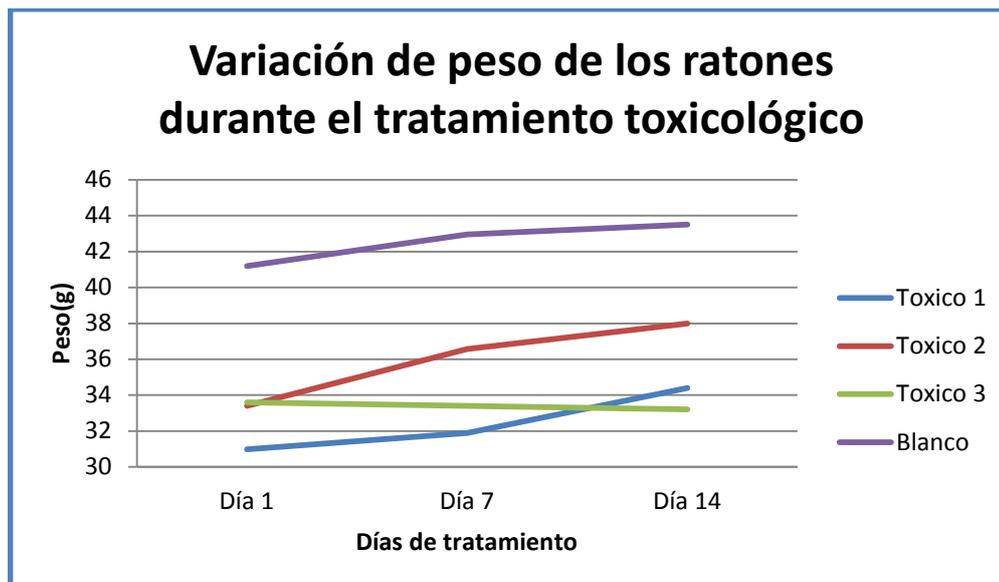
Además de estos datos se analizó el peso de los ratones luego de los tratamientos variación que no tubo significancia estadística por lo no fue considerado.

3.3.3. TOXICIDAD

Los animales se colocan en cajas individuales, se emplean 4 ratones albinos (30–35g). A 3 de ellos se administró 2mL de la infusión de *Cyclosporum leptophyllum* (Pers.) Sprague (concentración 0,1g/ml) por cada 35 gramos de peso del animal, se administró por vía oral durante los 14 días de evaluación y al restante se lo utilizó como control negativo, se obtuvo los siguientes resultados luego de los 14 días de observación.

3.3.3.1. Variación de peso.

Los ratones para la experimentación toxicológica fueron pesados antes de la experimentación a los 7 días de la experimentación y a los 14 días antes de la disección, con estos datos fue realizada la GRÁFICA No.6. La diferencia obtenida de entre los días 1 y 14 son los siguientes: de 3,42 g en T1, 4,6 en el T2, .0,4 en el T3 y en el B 2,3g valores que son mínimos y que se los puede relacionar con el crecimiento normal de ellos.



Cada valor está dado como la media \pm desviación estándar de las observaciones evaluados por Test Anova y Test Tukey, $p < 0,05$.

GRAFICA No.5 VARIACIÓN DEL PESO DE LOS RATONES LUEGO DEL TRATAMIENTO TOXICOLÓGICO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Al evaluar la diferencia de peso de los ratones durante el periodo de tratamiento se puede observar que la variación de peso es homogénea y al analizarse estadísticamente con el test de Anova y Tukey se pudo comprobar que las variaciones son iguales; y estas diferencias pueden deberse únicamente al desarrollo normal de los ratones a través del tiempo de experimentación.

3.3.3.2. Comportamiento toxicológico.

Las observaciones están dirigidas a la determinación de la muerte y tiempo de ocurrencia de la misma, signos y síntomas de toxicidad. A los cuales se les dio un valor predeterminado de normal y se los evaluó según su cambio, este valor debió ir variando según corresponda. Los datos fueron recopilados en el CUADRO No.10

CUADRO No. 10 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO TOXICOLÓGICO DE LOS RATONES. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Lote de animales	Normal	Resultados		
		T1	T2	T3
Actividad general	4	4	4	4
Grito	0	0	0	0
Irritabilidad	0	0	0	0
Respuesta al toque	4	4	4	4
Huida	4	4	4	4
Contorsiones	0	0	0	0
Enderezamiento	0	0	0	0
Tono corporal	4	4	4	4
Patas posteriores	0	0	0	0
Convulsiones	0	0	0	0
Lagrimación	0	0	0	0
Micción	4	4	4	4
Defecación	4	4	4	4
Piloerección	4	4	4	4
Nº de muertos	Ninguno	Ninguno		

Resultados que muestran que no se dieron cambios de comportamiento, signos ni síntomas de toxicidad durante el periodo investigativo. Lo que quiere decir que la infusión de *Cyclosporum leptophyllum* no provoca signos ni síntomas de toxicidad al ratón al que se le ha administrado la infusión durante 14 días consecutivos en la misma dosis y hora.

3.3.3.3. Análisis Histopatológico

1) EXAMEN MACROSCÓPICO

Las características macroscópicas de los órganos analizados son las siguientes:

Hígado

El hígado de los diferentes grupos incluido el blanco se presenta como un órgano homogéneo, liso, de color rojo oscuro. Su peso promedio es de 1,8 g. Está lleno de sangre, mide 2,8 cm. (de largo) x 1,5cm. (de ancho). Se distinguen cuatro lóbulos en el ratón el derecho, izquierdo, medial y el caudal. Se puede observar entre los lóbulos y por debajo de estos una estructura pequeña llamada vesícula biliar de color amarillo verdoso FOTOGRAFÍA No.7.

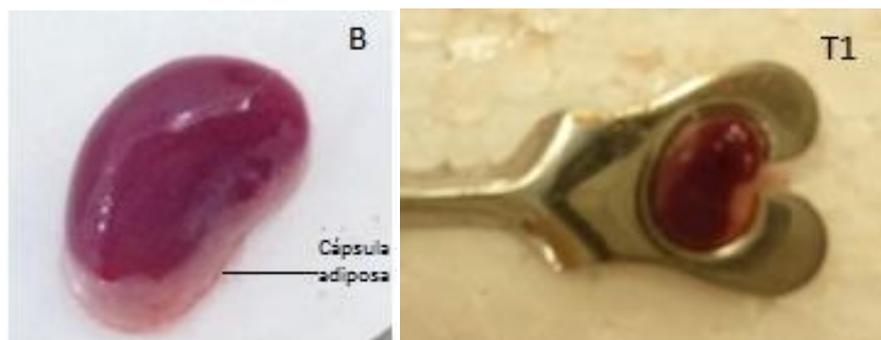


FOTOGRAFÍA No.7 HÍGADO DE RATÓN CON CARACTERÍSTICAS NORMALES DONDE SE OBSERVA LA VESÍCULA BILIAR.

Riñones

Los riñones analizados incluido el blanco son de color rojo oscuro, tienen forma de habichuela, pesan entre 0,2g y 0,26 g cada uno y miden unos 1,2cm. (largo) x 0,6cm. (ancho). En cada riñón se distingue un polo superior y uno inferior; dos caras, la anterior y la posterior; dos bordes, el externo o lateral convexo y el medial o interno cóncavo que presenta en su porción central el hilio renal, ésta es una ranura por donde entran y salen nervios, vasos linfáticos, vasos arteriovenosos y la pelvis renal, estos últimos constituyen el pedículo renal que se dispone de la siguiente forma, de delante a atrás: vena renal, arteria renal y pelvis renal.

Envolviendo íntimamente al parénquima renal se encuentra primero la cápsula fibrosa, por fuera de ésta se encuentra la cápsula adiposa (FOTOGRAFÍA No.8) y aún más externamente se sitúa la aponeurosis renal.



FOTOGRAFIA No.8 RIÑÓN DE RATÓN CON CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS NORMALES; EN EL B (BLANCO) SE OBSERVA LA CÁPSULA ADIPOSA Y EN EL T1 LA FORMA DE HABICHUELA DEL ÓRGANO.

Estómago

El estómago de los diferentes grupos incluido el blanco se presentan como un órgano hueco en forma de "J" su superficie externa es lisa de color rosa y blanco, mientras que la parte interna presenta numerosos pliegues blanquesinos. Mide 1,2cm de largo, 0,75 cm de ancho y un peso de 0,5g en promedio. (FOTOGRAFÍA No.9)

Presenta varias partes que son: fundus, cuerpo, de antro y píloro. Su borde menos extenso se denomina curvatura menor y la otra, curvatura mayor. El cardias es el límite entre el esófago y el estómago y el píloro es el límite entre el estómago y el intestino delgado.



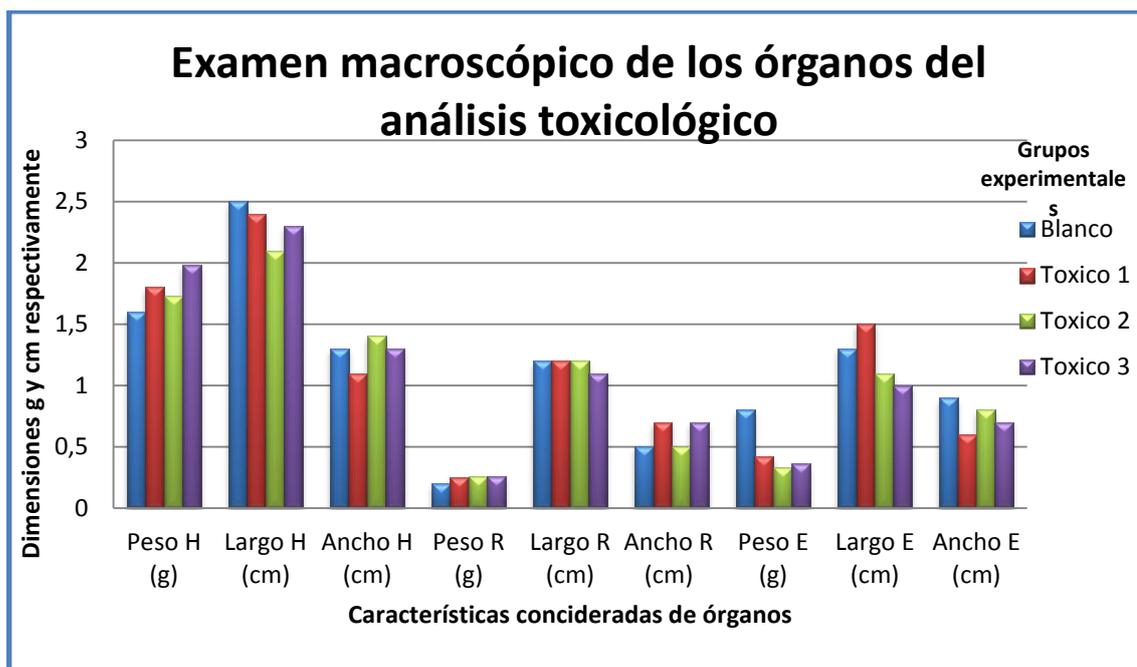
FOTOGRTAFIA No.9 ESTÓMAGO DE RATÓN CON CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS NORMALES.

Al analizar lo antes expuesto podemos decir que el examen macroscópico presenta resultados normales con respecto a su morfología, forma, tamaño y color de los órganos con respecto al blanco (ANEXO No. 4). En el CUADRO No. 11 y GRAFICO No. 7 se puede observar las mínimas variaciones de las características dimensionales de los órganos como ancho, largo y peso.

CUADRO No. 11 DIMENSIONES DE LOS ÓRGANOS DE LOS RATONES LUEGO DE LOS 14 DÍAS DE EVALUACIÓN. DONDE LAS LETRAS H, R, E REPRESENTAN HÍGADO, RIÑÓN Y ESTÓMAGO RESPECTIVAMENTE. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Dimensiones de los órganos de análisis toxicológico (cm)									
	Peso(H)	Largo(H)	Ancho(H)	Peso(R)	Largo(R)	Ancho(R)	Peso(E)	Largo(E)	Ancho(E)
B1	1,6	2,5	1,3	0,2	1,2	0,5	0,8	1,3	0,9
T1	1,8	2,4	1,1	0,25	1,2	0,7	0,42	1,5	0,6
T2	1,73	2,1	1,4	0,26	1,2	0,5	0,33	1,1	0,8
T3	1,98	2,3	1,3	0,26	1,1	0,7	0,36	1	0,7

Cada valor está dado como la media \pm desviación estándar de las observaciones evaluados por Test Anova y Test Tukey, $p < 0,05$.



Cada valor está dado como la media \pm desviación estándar de las observaciones evaluados por Test Anova y Test Tukey, $p < 0,05$.

GRÁFICO No.6 COMPARACIONES MÚLTIPLES DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LOS RATONES EN EL TRATAMIENTO TOXICOLÓGICO. BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

2) EXAMEN MICROSCÓPICO

El resultado del análisis microscópico realizado de los órganos de los grupos Blanco (B1), Toxicológico 1, Toxicológico 2 y Toxicológico 3 en el laboratorio de histopatología se resume a continuación ya que todos los grupos presentan las mismas características.

Hígado: Lobulillos hepáticos de arquitectura y disposición normal; Hepatocitos de tamaño normal, no se observan depósitos en su citoplasma; Espacios porta con vasos de calibre normal. Congestión vascular

Riñón: Glomérulo renal con membrana epitelial y de Bowman conservados; Túbulos renales de calibre normal sin depósitos en su luz. Congestión vascular

Estómago: Mucosa integra; glándulas de forma y distribución normal; grosor de la pared muscular adecuada.

Estos resultados dan a conocer que el extracto de *Cyclopermum leptophyllum* no causa ningún daño ni modificación celular de los órganos luego de la administración del extracto durante 14 días.

Los datos evaluados en el análisis histopatológico muestran normalidad en todos los órganos y en todas las pruebas lo que quiere decir que la infusión de *Cyclopermum leptophyllum* no provoca daño hepático, renal ni estomacal luego de su administración consecutiva durante 14 días. (ANEXO No. 4).

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Mediante el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico se encontró la presencia de catequinas, saponinas, taninos, flavonoides, antocianidinas, aceites esenciales y azúcares reductores; Se analizaron los flavonoides mediante cromatografía de capa fina observándose 2 manchas los cuales mediante los Rf se asume que puede tratarse de ácido clorogénico, 6-acido hidroxiquinurénico, kaempferol, quercetina, ácido isoclorogénico; al igual que se observaron saponinas atribuibles por su Rf a monodesmosides α -, β hederin.
2. *Cyclopermum leptophyllum* presenta actividad cicatrizante eficaz y eficiente en heridas incisas, con relación al control positivo (Lamoderm®), al presentar menor tiempo de cicatrización, y menor longitud de la cicatriz.
3. La infusión de *Cyclopermum leptophyllum* es eficaz en el tratamiento contra la diarrea en una concentración del 5% en agua e ineficaz a una concentración de 10% en comparación con la Loperamida.
4. El análisis toxicológico nos muestra que la infusión de *Cyclopermum leptophyllum* en una concentración del 0,1g/ml de planta, no presenta toxicidad subaguda en ratones con relación al comportamiento, signos o síntomas de toxicidad, ni en el análisis histopatológico.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Es necesario realizar un estudio de cicatrización del extracto etanólico usando un vehículo parecido al del control positivo para verificar dicha actividad reduciendo el margen de error que puede ser causado por la falta de este.
2. Es conveniente realizar evaluaciones de la actividad antidiarréica a diferentes concentraciones de la infusión para determinar la concentración terapéutica más recomendable.
3. Los compuestos que se han encontrado en la presente investigación deben ser estudiados fitoquímicamente con mayor profundidad de manera se identifique exactamente de los flavonoides, taninos y saponinas que posee *Cyclospermum leptophyllum*.
4. Al conocer que las actividades que se presumían del vegetal son ciertas, es necesario continuar con la comprobación clínica, y un análisis toxicidad crónica forma que el vegetal pueda ser comercializado como tal o sus principios activos en una forma farmacéutica.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

Se realizó la evaluación del efecto antidiarréico y cicatrizante de la infusión y del extracto etanólico de *Cyclosporum leptophyllum* en ratones (*Mus musculus*) y conejos (*Oryctolagus cuniculus*), en el Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Mediante el método Experimental, se realizaron ensayos para control de calidad del vegetal y extracto etanólico, evaluando la actividad cicatrizante en heridas incisas hasta su total cicatrización, considerando longitud, ancho y tiempo de cicatrización en conejos (*Oryctolagus cuniculus*); la actividad antidiarréica evaluamos en ratones (*Mus musculus*) inducidos con aceite de ricino, considerando frecuencia, tipo y gramos de heces durante 6 horas, además estudiamos la toxicidad subaguda; los resultados se analizamos mediante los test Anova y Tukey con intervalo de 95% confianza.

Obteniéndose como resultado en el análisis fisicoquímico que el extracto etanólico posee pH 5,45, densidad relativa 0,49g/ml, índice de refracción 1,35 y sólidos totales 20,97%; el tamizaje fitoquímico mostró saponinas, flavonoides, taninos con alta evidencia, con menor evidencia catequinas, antocianidinas, aceites esenciales y azúcares.

Con respecto a la actividad cicatrizante se concluyó que es eficaz, pues presenta menor tiempo de cicatrización y menor longitud de la cicatriz. En la actividad antidiarréica mostró eficacia al administrarse infusión de 5% en agua e ineficacia al 10%; el análisis toxicológico indicó que *Cyclosporum leptophyllum* no produce toxicidad subaguda. Recomendando tanto a estudiantes como docentes, realizar estudios cicatrizantes del extracto, usando vehículos similares al control positivo para reducir errores; e identificar exactamente metabolitos secundarios presentes.

SUMMARY

An evaluation of the antidiarrheal and wound healing effect was performed to the infusion and the ethanol extract of *Cyclosporum leptophyllum* in mice (*Mus musculus*) and rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). This was done in the laboratory animal facilities at the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (Chimborazo Polytechnic Higher Education School).

By using the experimental method, some trials were carried out for quality control of the plant and its ethanol extract. Its healing activity in incised wounds until its complete healing was evaluated considering length, width, and healing time in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*); the antidiarrheal effect was evaluated in mice (*Mus musculus*) which were induced with castor oil. Frequency, type, and stool weight were considered for 6 hours. Subacute toxicity was also studied. The results were analyzed by using Anova and Tukey tests with 95% of reliability.

The result in the physical chemical analysis was that the ethanol extract has the following parameters: pH 5.45, relative density 0.49g/ml, refraction index 1.35, and total solids 20, 97%; the phytochemical screening showed high evidence of saponins, flavonoids, and tannins. Lower evidence was seen in catechins, anthocyanidins, essential oils and sugars.

Concerning the healing activity, it was concluded that it is effective since it shows less healing time and with smaller scars. Regarding antidiarrheal activity, it presented efficiency when administering infusion of 5% in water and inefficiency when it had 10%; the toxicological analysis indicated that *Cyclosporum leptophyllum* does not produce subacute toxicity. It is recommended that teachers and students do healing studies of this extract by using similar vehicles with positive control to diminish error production and identify present secondary metabolites.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **FONNEGRA, R y otro.,** Plantas medicinales aprobadas en Colombia., 2ª. Ed., Editorial Universidad de Antioquia., Colombia., Enero del 2007., Pp.10-14.
2. **SARAVIA, A.,** Manual de Ensayos Toxicológicos y Farmacológicos Experimentales *In Vivo o In Vitro.*, Editorial Universitaria., Universidad de San Carlos de Guatemala., Guatemala., 2005., Pp. 142
3. **GUERRA, A.,** El impacto de los nuevos corticosteroides tópicos en el tratamiento de la dermatitis tópica., Hospital Universitario 12 de Octubre., Universidad Complutense., Madrid., 2001., Pp. 14.
E-Books. <http://http://www.revespcardiol.org>
4. **LÓPEZ, M.,** Manual de plantas medicinales para Guinea Ecuatorial., Editorial Fundación de Religiosos para la salud (FRS),, Guinea Ecuatorial., Mayo 2012., Pp. 7, 8,11.
E-Books.
http://www.fundacionfrs.es/archivos/manual_plantas_medicinales_v2.pdf

- 5. MAESTRO, C Y OTROS.,** Plantas medicinales españolas.
Familia *Umbelliferae* (*Apiaceae*)., Facultad de Farmacia., Departamento de Botánica., Universidad de Salamanca., Salamanca - Brasil., 2009., Pp.19-20
- 6. MÉNDEZ, M Y OTROS.,** Cirujano General., Efecto cicatrizante de la pomada preparada con *Dorstenia drakena* L. (*Moraceae*) en heridas cutáneas., Editorial universidad UNAM., Núm. 4., Vol. 30., 2008., Pp.205-206.
E-Books. <http://www.medigraphic.com/pdfs/cirgen/cg-2008/cg084e.pdf>
- 7. MORALES, F.,** Manual de Plantas de Costa Rica.,
Cyclospermum leptophyllum (Pers.) Sprague., Costa Rica., Noviembre 2006. Pp. 1
E-Books.<http://darnis.inbio.ac.cr/ubis/FMPro?-DB=UBIPUB.fp3&-lay=WebAll&-error=norec.html&-Format=detail.html&-Op=eq&id=719&-Find>
- 8. MRAD, A.,** Ética en la investigación con animales., Ética y bioética., Cátedra de Manuel Ancízar., 2001., Pp. 1,9.
E-Books. http://www.bdigital.unal.edu.co/783/21/263_-_20_Capi_19.pdf
- 9. OLMEDO, D.,** Farmacognosia y Fitoterapia., Escuela de Farmacia., Departamento de Química Medicinal y Farmacognosia., Universidad de Panamá., Farmacognosia., Módulo I., Panamá., 2009., Pp. 6,7,11, 12,16,17.
E-Books. <http://www.slideshare.net/dionisioantonio/apuntes-modulo-farmacognosia-tecnico>

- 10. OSORIO, E.,** Aspectos Básicos de Farmacognosia., Facultad de Química Farmacéutica., Universidad de Antioquia., Colombia., Septiembre de 2009., Pp.1-2.
E-Books. <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/Farmacognosia.pdf>
- 11. PAZ, M. Y OTROS.,** Los principios activos de las plantas medicinales y aromáticas., Ingeniería Agroforestal., Universidad Politécnica de Madrid., Tema 6., 2012., Pp. 56- 64.
E-Books. <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema6.pdf>
- 12. PIKE, R.,** Explore la Farmacología., American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics., Septiembre de 2003., Pp.3-8
E-Books.
http://www.aspet.org/uploadedFiles/Knowledge_Center/Career_Resources/Explore%20la%20Farmacolog%C3%ADa.pdf
- 13. RAMÍREZ, R Y OTRO.,** Estudios Pre-clínicos y Clínicos., Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios., Gobierno Federal México., México., 2013., Pp. 2-4.
- 14. RAPOPORT, E., Y OTRO.,** Malesas Comestibles., Universidad Nacional del Comahue., Instiuto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)., Fundación Normatil., Buenos Aires., 2009.,
E-Books. <http://malezascomestibles.blogspot.com/2011/10/apio-cimarron.html>

- 15. RODRÍGUEZ, F., Y OTRO.,** Heridas., Servicio de Cirugía General y Digestiva., Hospital Clínico Universitario de Málaga., Málaga., Pp.5.
E-Books.
<http://www.medynet.com/usuarios/jraguilar/Manual%20de%20urgencias%20y%20Emergencias/heridas.pdf>
- 16. RUSSELL, R. Y OTRO.,** Temas seleccionados sobre medicina de animales de laboratorio. Conejo., Centro Panamericano de Fiebre aftosa (OPS/OMS)., Rio de Janeiro-Brasil., 1988., Pp.4-10.
E-Books.
<http://bvs1.panaftosa.org.br/local/file/textoc/SerMonCienTec4.pdf>
- 17. S, Jana Y OTRO.,** *Anethum graveolens*: An Indian traditional medicinal herb and spice., 2010., December., Pp. 1-14. E-Books.
<http://worldwidescience.org/topicpages/a/anethum+graveolens+foeniculum.html>
- 18. SALVADOR, N.,** Biología general del reactivo biológico., Unidad de Producción Animal., Instituto Santiago Ramón y Cajal., CSIC., Cap 2., Madrid., Pp. 9
E-Books. <http://es.scribd.com/doc/86832705/manejo-de-animales>
- 19. SENDRA, N.,Y OTROS.,** Cátedra Horticultura., El cultivo del apio., Universidad Nacional de Entre Ríos., Facultad de Ciencias Agropecuarias., Oro Verde-Argentina., 2011., Pp.2
E-Books.
<http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/3353/apio%20Open.pdf>

- 20. TRUJILLO, O. y OTRO.,** Antidiarréicos., Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional “La Raza”, IMSS., Técnico académico asociado “A” TC., Departamento de Medicina Familiar., Facultad de Medicina., *Universidad Nacional Autónoma de México.*, México.
E-Books.
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/familiar/atfm133/revfarma.html>
- 21. VELANDIA, D.,** Evaluación de la actividad cicatrizante y caracterización fitoquímica de *Dracontium croatii.*, Universidad Nacional de Colombia., Facultad de Ciencias., Departamento de Farmacia., Bogotá D.C., Noviembre de 2009., Pp. 29-35.
E-Books. <http://www.bdigital.unal.edu.co/8469/1/192529.2009.pdf>
- 22. VILLAR, A. Y OTRO.,** Universidad Nacional de Trujillo., Farmacología de plantas medicinales., Cap V., Pp. 65.
E-Books.
<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap5.pdf>
- 23. ZAPATA, V.,** Farmacología Pre Clínica., Attribution Non-commercial., Mayo 14 del 2012., Pp.1. E-Books.
<http://es.scribd.com/doc/93456888/Farmacologia-Pre-Clinica>
- 24. ASTUDILLO, A y otros.,** *Revista Latinoamericana de Química.*, El reino vegetal, fuente de agentes antiespasmódicos gastrointestinales y antidiarréicos., México., 37/1., Abril., 2009., Pp. 8 - 15

- 25. NAVARRETE, G.,** Revista Facultad Medicina UNAM.,
Histología de la piel., No.4., Vol.46., México., Julio-Agosto, 2003.,
Pp. 131-132
- 26. VEGA, R y otro.,** Revista Cubana de Plantas Medicinales.,
Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto
fluido de *Ocimum gratissimum* L. (orégano cimarrón)., Centro de
investigaciones y desarrollo de medicamentos., Departamento de
investigaciones biológicas., No..2., Vol.2., Versión On-line ISSN 1028-
4796., Habana., 1997. Pp.
- 27. QUESADA, A.,** Revista Biocenosis., Las plantas medicinales.,
Vol. 21., Costa Rica., 2008., Pp.20-21.
- 28. SANCHEZ, L Y OTROS.,** Revista Cubana., Plantas
Medicinales., Toxicidad aguda y subaguda oral del extracto acuoso
liofilizado de *Rhizophora mangle* L. en ratas., No.3., Vol.13.,
Versión On-line ISSN 1028-4796., Habana., 2008.
- 29. ALEMANIA., ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA
SALUD.,** Especificaciones para las preparaciones farmacéuticas OMS.,
Pautas para la evaluación de medicamentos herbarios., Portal de
Información - Medicamentos Esenciales y Productos de Salud., Serie de
Informes Técnicos No. 863., Anexo 11., Informe 34 ., Munich-
Alemania., Pp.1996.1-8.
E-Books. <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Jh2987s/2.html>

30. BUENOS AIRES., UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES.,

Reglamento para el cuidado y uso de animales de laboratorio en la Universidad de Buenos Aires., Argentina., 2004., Pp. 1,2.

31. COLOMBIA., UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE

SANTANDER., Protocolo manejo de herida., Código: TBE.01., Versión: 02., Resolución N ° 294., Santander-Colombia., Febrero 27 de 2008., Pp.1-2.

E-Books.

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

32. CUBA., NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y

EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP., Farmacognosia Y Productos Naturales., La Habana- Cuba., 1992., Pp. 57, 58, 59, 60.

33. ECUADOR., CUADRO NACIONAL DE

MEDICAMENTOS BÁSICOS Y REGISTRO TERAPÉUTICO.

Consejo nacional de salud. Comisión nacional de medicamentos e insumos. Capítulo I., Tracto alimentario y metabolismo. Loperamida., 9va Revisión. 2013. Pp. 18,54.

34. ECUADOR., MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DEL

ECUADOR., Acuerdo 0244. Resolución Oficial 385., 26 Octubre., Quito- Ecuador., 2006., Pp. 2-20.

35. EQUIPO DE REDACCIÓN DE IQB., Vademecum.,

Monografía., Neomicina (14 de Julio de 2013)., Sulfadiazina de plata (16 de Junio de 2010)., Betametasona (15 de diciembre de 2010) .

36. PARAGUAY., COMISIÓN HONORARIA DE

EXPERIMENTACIÓN ANIMAL., Animales de laboratorio: rata y ratón., Características biológicas., Características reproductivas y cría., Clasificación genética., 2013.

37. SUIZA., ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD

(OMS) Y OTROS., Directrices sobre conservación de plantas medicinales., Gland-Suiza., 1993., Pp. 4,5.

E-Books. http://www.urosario.edu.co/urosario_files/57/571bf298-6ad8-4b7f-b432-26a6fb78e6de.pdf

38. ARAMBARRI, A y otros., Caracterización Anatómica de las

Especies de Apio Cimarrón (*Ammimajus*, *Apium sellowianum*, *Cyclosporum leptophyllum: Apiaceae*)., Morfología Vegetal., Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales., Departamento de Ciencias Biológicas., Universidad Nacional de La Plata., Buenos Aires-Argentina., 2004., TESIS., Pp.34-36.

39. BOLAÑOS, K y otros., Uso de la miel de Chumelo

(*Tetragonisca angustula*) como coadyuvante en el proceso de cicatrización de heridas en conejos (*Oryctolagus cuniculus*) de encaste de neozelandés., Facultad de Ciencias Agronómicas., Departamento de Zootecnia., Universidad de el Salvador., El Salvador - Colombia., 2007., TESIS., Pp. 20

- 40. EDWIN, E *et al.***, Efecto antimicrobiano, antiulceroso y antidiarréico de las hojas de Buganvilla (*Bougainvillea glabra Choisy*), Department of Herbal Drug Research., B.R. Nahata College Pharmacy & Contract Research Center., Mandsaur – 458001., Madhya Pradesh., India., 2007., TESIS., Pp. 136-137.
- 41. GARCÍA, Mónica.**, Medición de pH normal de la piel del gato., Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencias Pecuarias., Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología., Santiago de Chile., 2004., TESIS., Pp. 3
- 42. MOLINA, F.**, Efecto del plasma rico en factores de crecimiento (PRFC) en la regeneración en tejidos blandos y tejido óseo. Estudio experimental en conejos albinos de Nueva Zelanda., Facultad de Medicina y Odontología., Departamento de Dermatología, Estomatología, Radiología y Medicina Física., Universidad de Murcia., Murcia., TESIS., 2008., Pp. 9-11.
- 43. OBANDO HERNÁNDEZ, Carlos.**, Utilización de dos dosis de tolazolina para revertir la anestesia con xilacina-ketamina en conejos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia., Escuela de Medicina Veterinaria., Universidad de San Carlos de Guatemala., Guatemala., TESIS., Noviembre 2006., Pp.4.
- 44. ÁCIDO FÚSICO**
<http://www.infecto.edu.uy/terapeutica/atbfa/topico/7.html>
2014/11/20

45. APIACEAE (UMBELLIFERAE)

http://www.dipbot.unict.it/sistematica_es/Apia_fam.html

2014/01/24

46. APIUM LEPTOPHYLLUM (Pers.)

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/apiaceae/apium-leptophyllum/fichas/ficha.htm>

2013/07/21

47. BALANCEADOS PROCUYES Y CONEJOS

<http://www.pronaca.com/site/principalNutricion.jsp?arb=1113&cat=38&subcat=124>

2013/12/25

48. BIOLOGÍA DE LAS HERIDAS Y EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN.

<http://blog.utp.edu.co/cirugia/files/2011/07/biologiadelasheridasyelproceso-de-cicatrizaciondocumento2.pdf>

2014/11/20

49. CONEJO NUEVA ZELANDA

<http://cuniculturamx.jimdo.com/razas-de-conejos/nueva-zelanda/>

2013/11/21

50. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

http://organica1.org/1311/1311_6.pdf

2013/12/25

51. DIARREA

http://www.grupoargon.com/cofm/temas/Preguntas/Diarrea_07.html

2014/11/21

52. DIARREA

<http://2011.elmedicointeractivo.com/farmacia/temas/tema9->

[10/alteracionesd3.htm?botsearch](http://2011.elmedicointeractivo.com/farmacia/temas/tema9-10/alteracionesd3.htm?botsearch)

2013/12/25

53. HIDROCORTISONA

<http://www.ecured.cu/index.php/Hidrocortisona>

2014/11/21

54. HUMEDAD. CENIZAS

<http://es.scribd.com/doc/42854211/11/Metodo-de-cenizas-totales>

2013/12/15

55. IMPORTANCIA DE LAS PLANTAS MEDICINALES.

http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/apbot-farm2a/montesm02/02.html

2014/01/15

56. LA PIEL, MATURITA DE BIOLOGÍA.

<http://biochemiapuntesdermedelparatodos.wikispaces.com/file/view/LA+>

[PIEL.pdf](http://biochemiapuntesdermedelparatodos.wikispaces.com/file/view/LA+PIEL.pdf)

2014/11/20

57. LAMODERM

http://www.lamosan.com/web_lamosan_es/medicos/lamoderm.html

2013/11/21

58. LAS PLANTAS MEDICINALES Y SUS PRINCIPIOS ACTIVOS

<http://www.jardinbotanico-clm.com/wp>

content/uploads/2011/04/Ficha_Ciclos_Bloque2.pdf

2013/12/25

59. LOPERAMIDA

http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Loperamida.htm

[m](#)

2013/11/21

60. LOS MAMÍFEROS. ANATOMÍA.

<http://mamiferos.galeon.com/anatomia.htm>

2013/11/21

61. METABOLITOS SECUNDARIOS. USO DE LAS SAPONINAS.

http://www.natureduca.com/med_sustanc_glucosidos3.php

2013/12/25

62. OBJETIVOS DE LA FARMACOGNOSIA

<http://www.farmacia.us/farmacias/medicina/objetivos-de-la-farmacognosia/>

2014/01/16

63. PARTES DE LA FARMACOLOGÍA

<http://es.scribd.com/doc/100444642/1/PARTES-DE-LA-FARMACOLOGIA>

2014/01/16

64. RATONES DE LABORATORIO

<http://www.mundoroedor.com/ratones.html>

2013/10/15

65. RAZAS DE CONEJOS

<http://www.conejitosenanos.com/index.php/razas-de-conejos-2/>

2013/11/21

66. SALES DE REHIDRATACIÓN.

<http://www.vent3.com/09.pdf>

2014/11/21

67. SALES PARA REHIDRATACIÓN

<http://www.roux-ocefa.com/medicinales/sro.shtml>

2014/01/24

68. SULFADIAZINA DE PLATA

http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Sulfadiazina%20de%20plata.htm

2014/11/20

69. TANINOS.

<http://www.botanical-online.com/medicinaletaninos.htm>

2013/12/15

70. TOXICIDAD DE PLANTAS MEDICINALES.

<http://www.nutridep.net/nutricion->

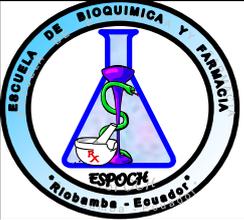
[costarica/index.php/informacion/articulos-informativos/nutricion/95-toxicidad-de-plantas-medicinales](http://www.nutridep.net/nutricion-costarica/index.php/informacion/articulos-informativos/nutricion/95-toxicidad-de-plantas-medicinales)

2014/01/16

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO No. 1 PROTOCOLO FARMACOLÓGICO ANTIDIARRÉICO (PFA001)

	PROTOCOLO FARMACOLÓGICO ANTIDIARRÉICO	Código: PFA001
		Versión: 01
		Página: 1

1. OBJETIVO

Estandarizar el procedimiento de la evaluación de la actividad antidiarréica en ratones *Mus musculus*.

2. ALCANCE

Aplica en evaluaciones farmacológicas *in vivo* donde se evalué la actividad antidiarréica de un extracto, sustancia o medicamento mediante el modelo de la diarrea inducida con aceite de ricino.

3. DEFINICIONES

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

3.2. *Ad libitum*.- Es una expresión del latín que significa literalmente «a placer, a voluntad» y quiere decir «como guste».



PROTOCOLO FARMACOLÓGICO ANTIDIARRÉICO

Código: PFA001

Versión: 01

Página: 2

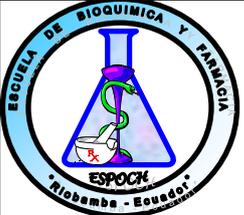
3.3.Inducir.- incitar, impulsar, instigar, mover, animar, convencer, estimular, excitar, exhortar, inculcar, persuadir, empujar

3.4.Variables.- Es una característica que al ser medida en diferentes *individuos* es susceptible de adoptar diferentes valores.

3.5.Aceite de Ricino.- Se obtiene a partir de la planta *Ricinus communis*, considerado como catártico que estimula la actividad intestinal motora por acción directa sobre el músculo liso, estimulación de los plexos nerviosos intramurales y liberación de prostaglandinas, incrementa las contracciones del monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) en la mucosa, que a su vez hace que aumente la secreción de electrolitos y contribuye a su efecto catártico. Reduce mucosa intestinal en forma parcialmente reversible. Origina evacuaciones líquidas y elimina gases en 2 a 6 h. Las evacuaciones se normalizan 1 ó 2 días después de su administración.

3.6.Infusión.- una solución diluida de constituyentes fácilmente solubles de la droga cruda. Es adecuada para las drogas aromáticas, para evitar que los aceites volátiles se evaporen a otras temperaturas. La infusión se realiza sumergiendo las partes a utilizar de la planta en una cantidad de agua hirviendo, se deja reposar unos 15 minutos y se filtra a continuación mediante un tamiz o papel de filtro.

3.7.Evacuaciones.- La evacuación de las heces es el último paso de la comida en el camino por el tracto digestivo. Las heces están hechas de lo que queda después de que el aparato digestivo (estómago, intestino delgado y colon) absorbe los nutrientes y líquidos de lo que usted comió y tomó.

	PROTOCOLO FARMACOLÓGICO ANTIDIARRÉICO	Código: PFA001
		Versión: 01
		Página: 3

4. CONTENIDO DEL PROTOCOLO

4.1. ACLIMATACIÓN

Los animales de experimentación (ratones *Mus musculus*) son pesados, antes de la evaluación; Se los aloja en jaulas individuales a una temperatura de 22 ± 2 , humedad relativa de $40\% \pm 10$ y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad con ventilación suficiente. Son alimentadas con una dieta 1.5 g por cada 10 g de peso corporal al día de pellet y agua *ad libitum*.

4.2. INDUCCIÓN DE LA PATOLOGÍA Y TRATAMIENTO

Diarrea inducida con aceite de ricino

Se divide a los ratones en grupos: blanco, control positivo, control negativo y los grupos necesarios para la evaluación del medicamento extracto o sustancia a estudiar.

- Al grupo experimental se le administra el tratamiento.
- Control positivo se le administra el fármaco con actividad farmacológica comprobada por vía Oral (loperamida).
- Control negativo no se le administra tratamiento pero si la patología.
- Blanco no se le administra tratamiento ni patología.

Luego de 30 min de haber administrado los tratamientos a cada grupo se administra aceite de ricino (agente diarréico). A partir de ese momento, se registra el tiempo y frecuencia de las evacuaciones de cada ratón por un periodo de 4 h.

4.3. EVALUACIÓN DE PROCESO DIARRRÉICO

Las variables evaluadas son tiempo de aparición de la primera deposición y su frecuencia con las respectivas características físicas que presentan. Los resultados son



**PROTOCOLO FARMACOLÓGICO
ANTIDIARRÉICO**

Código: PFA001

Versión: 01

Página: 4

codificados de la manera siguiente: porcentaje de los animales que reaccionan al tratamiento con ricino con la emisión de varias heces blandas o en el caso de una muy fuerte respuesta del % de animales que presentan diarrea, (heces completamente líquidas), haciendo eventualmente las correcciones aportadas por las series testigo.

Evaluación de actividad antidiarréica

Grupos	Tratamiento	Dosis (% de concentración)	Primera deposición	Peso de las heces después de 6 horas (g)	Frecuencia deposiciones.
I	Infusión	100%			
II	Infusión	50%			
III	Loperamida	0.057 mg/kg			
IV	Blanco			

Características físicas de las heces

Ratones	Blanco	Control+	Control -	Tratamiento Experimental1	Tratamiento Experimental 2
Color					
Textura					
Aspecto					
Otros					

Color: color que poseen las heces

Textura: dura, blanda, semilíquida, líquida.

Aspecto: homogéneo, heterogéneo.

Otros: presencia de sangre, moco etc.



**PROTOCOLO FARMACOLÓGICO
ANTIDIARRÉICO**

Código: PFA001

Versión: 01

Página: 5

5. BIBLIOGRAFÍA

EDWIN, E et al., Efecto antimicrobiano, antiulceroso y antidiarréico de las hojas de Buganvilla (*Bougainvillea glabra Choisy*), Department of Herbal Drug Research., B.R. Nahata College Pharmacy & Contract Research Center., Mandsaur – 458001., Madhya Pradesh., India., 2007., Pp. 136-137.

ASTUDILLO VÁZQUEZ, Adela., MATA, Rachel y NAVARRETE, Andrés., El reino vegetal, fuente de agentes antiespasmódicos gastrointestinales y antidiarréicos., *Rev. Latinoamer. Quím.*, México 37/1., April 2009., Pp. 9-15

CÉSPEDES VALCÁRCEL, Alfredo et al., Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto"., Revista Cubana de Medicina Militar Efectos de la tintura de *Melissa officinalis* L. sobre íleon aislado y en modelo de diarreas., *Versión On-line* ISSN 1561-3046. Rev Cub Med Mil v.25 n.1., Habana., 1996.

Adecuado por:

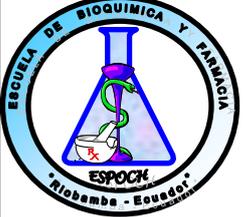
BQF. Germán Toapanta

Tesista: Cristina Robalino

6. CONTROL DE CAMBIOS

VERSIÓN	FECHA DE APROBACIÓN	DESCRIPCIÓN DE CAMBIOS
01	Febrero 20 del 2014	Creación del documento.

ANEXO No. 2 PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDA POR ESCISIÓN. (PFC001)

	PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDA POR ESCISIÓN.	Código: PFC001
		Versión: 01
		Página: 1

1. OBJETIVO

Estandarizar el procedimiento para la evaluación de la actividad cicatrizante en heridas por escisión en conejos.

2. ALCANCE

Aplica en evaluaciones farmacológicas *in vivo* donde se evalué eficacia de la actividad cicatrizante de un extracto, sustancia o medicamento con relación aun control positivo.

3. DEFINICIONES

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

3.2. *Ad libitum*.- Es una expresión del latín que significa literalmente «a placer, a voluntad» y quiere decir «como guste».

3.3. Incisión.- es la maniobra mediante la cual procedemos a la apertura de los tejidos, la piel o las mucosas, para poder llegar a los planos más profundos, o bien para delimitar lesiones tumorales y poder realizar, de esta manera, el propio objetivo de la intervención quirúrgica.

	PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDA POR ESCISIÓN.	Código: PFC001
		Versión: 01
		Página: 2

3.4. Heridas incisivas.- producidas por objetos cortantes con bordes nítidos, regulares y sin desgarros.

4. CONTENIDO DEL PROTOCOLO

4.1. ACLIMATACIÓN

Para evaluar la actividad cicatrizante se realiza procedimientos *in vivo* en animales (conejos *Oryctolagus cuniculus*). Se los aloja individualmente sobre piso en mallados con acceso libre al alimento y al agua, bajo condiciones controladas de temperatura (21 ± 2 C) y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad con ventilación suficiente durante 5 días. Alimentadas con una dieta de 100 gramos 100 gramos diarios de Pro cuyes y conejos de PRONACA (crecimiento) por kilogramo que peso del conejo y agua *ad libitum*.

4.2. INDUCCIÓN DE LA PATOLOGÍA

Los animales serán pesados antes del experimento.

Se realiza una incisión en el dorso del animal siguiendo las siguientes especificaciones:

- Se rasura la mitad inferior del lomo del animal. Se deja 5 horas o más para verificar que no existe irritación en la piel.
- Se administra lidocaína solución inyectable 2% (0,5mg/Kg) para anestesarlas. Se marca el área de la incisión que será en una zona donde exista cierta cantidad de musculo y que además los animales no tengan acceso a la herida de forma que no puedan interferir en los resultados de cicatrización.
- Posteriormente se marca el área de la incisión. Se realiza la incisión de aproximadamente 2 cm² y una profundidad de 0.2 cm, (se realiza con una cuchilla quirúrgica de acero inoxidable).

TODO ESTO EN CONDICIONES ASÉPTICAS.



**PROTOCOLO FARMACOLÓGICO
DE CICATRIZACIÓN: HERIDA POR
ESCISIÓN.**

Código: PFC001

Versión: 01

Página: 3

4.3. TRATAMIENTO

Se divide a los animales de experimentación en diferentes grupos:

- Al un grupo lo utilizamos de control negativo al cual se le realiza la incisión pero no se le administra tratamiento.
- El grupo dos es tratado como el control positivo, al cual se le realiza la incisión y se le aplica un tratamiento con un medicamento comercial (Lamoderm®).
- El otro grupo será el del tratamiento experimental al cual se le induce la herida y se le aplica el tratamiento.

En la herida se administra el tratamiento experimental o control durante el tiempo requerido para una cicatrización total, una vez al día con un hisopo estéril.

4.4. EVALUACIÓN

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

Extracto de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> . Cicatrización Longitud (cm)																				
Días / Grupo	Grupo 1 (100%)					Grupo 2 (50%)					grupo 3(control positivo)					grupo 4(blanco)				
1																				
2																				
3																				
4																				
5																				
6																				
....																				

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

Extracto de <i>Cyclosporum leptophyllum</i> (Pers.) Sprague. Cicatrización Ancho (cm)																				
Días / Grupo	Grupo 1 (100%)					Grupo 2 (50%)					grupo 3(control positivo)					grupo 4(blanco)				
1																				
2																				
3																				
4																				
5																				

	PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE CICATRIZACIÓN: HERIDA POR ESCISIÓN.	Código: PFC001
		Versión: 01
		Página: 4

Características sensoriales del corte y evolución sensorial.

Conejos	1	2	3	4
Color					
Irritación					
Aspecto					
Otros					
Observaciones.					
Fecha					

5. BIBLIOGRAFÍA

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

Adecuado por:

BQF. Germán Toapanta

Tesista : Cristina Robalino

6. CONTROL DE CAMBIOS

VERSIÓN	FECHA DE APROBACIÓN	DESCRIPCIÓN DE CAMBIOS
01	Febrero 20 del 2014	Creación del documento.

ANEXO No. 3 PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE RATONES *Mus musculus* A LOS QUE SE LES ADMINISTRÓ LA INFUSIÓN DE *Cyclosporum leptophyllum*. (PHP 001)

	PROTOCOLO TOXICOLÓGICO DE RATONES <i>Mus musculus</i> A LOS QUE SE LES ADMINISTRÓ LA INFUSIÓN DE <i>C. leptophyllum</i>.	Código: PHP 001
		Versión: 01
		Página: 1

1. OBJETIVO

Estandarizar el procedimiento para la evaluación de la toxicidad subaguda.

2. ALCANCE

Aplica en evaluaciones toxicológicas *in vivo* donde se evalué la toxicidad subaguda de un extracto, sustancia o medicamento.

3. DEFINICIONES

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

3.2. *Ad libitum*.- Es una expresión del latín que significa literalmente «a placer, a voluntad» y quiere decir «como guste».

3.3. Análisis histopatológico.- se refiere a el estudio en el microscopio del tejido retirado del paciente, en el cual observamos las características de las células y que alteraciones de las mismas.



**PROTOCOLO TOXICOLÓGICO DE
RATONES *Mus musculus* A LOS QUE
SE LES ADMINISTRÓ LA INFUSIÓN
DE *C. leptophyllum*.**

Código: PHP 001

Versión: 01

Página: 2

3.4. Dislocación Cervical.- es apropiada para aves, ratones, conejos o ratas inmaduras, o especies pequeñas similares. La técnica consiste en separar el cráneo y el cerebro de la medula espinal aplicando una presión a la base posterior del cráneo. Cuando la separación de la medula ocurre, el SNC deja de estimular la respiración y el corazón, conduciendo a la muerte

4. CONTENIDO DEL PROTOCOLO

4.1. ACLIMATACIÓN

Los animales de experimentación designados para el estudio son con un mínimo de 4 colocados en cajas individuales, se los ambienta a las mismas condiciones, a una temperatura de 22 ± 2 °C, a una humedad relativa de $40\% \pm 10$ con un periodo de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad y una alimentación de 5g/día/ratón pellet y agua *ad libitum*.

4.2. TRATAMIENTO

Se pesa a todos los animales, a 3 de ellos se administra 2mL de la sustancia en estudio por vía oral durante los 14 días en la misma dosis y la misma hora. Al animal restante se los utiliza como blanco para comparar el cambio de comportamiento que pueden sufrir los ratones con el tratamiento durante el tiempo de investigación, los resultados fueron anotados en una tabla.

4.3. EVALUACIÓN CLÍNICA

Para esto se realizó una inspección clínica diaria en la que se observó los cambios de comportamiento, signos y síntomas de toxicidad de los animales y mortalidad. La evaluación incluyó la relación que puede existir entre los ratones tratados con el blanco. Las observaciones están dirigidas a la determinación de signos y síntomas de toxicidad como: actividad general, grito, irritabilidad, respuesta al toque, huida, contorciones, enderezamiento, tono corporal, patas posteriores, convulsiones, lagrimación, micción,



**PROTOCOLO TOXICOLÓGICO DE
RATONES *Mus musculus* A LOS QUE
SE LES ADMINISTRÓ LA INFUSIÓN
DE *C. leptophyllum*.**

Código: PHP 001

Versión: 01

Página: 3

defecación, piloerección, el número de muertos durante la experimentación y el tiempo de ocurrencia de la misma.

Lote de animales	Normal	Resultados		
		T1	T2	T3
Actividad general	4			
Grito	0			
Irritabilidad	0			
Respuesta al toque	4			
Huida	4			
Contorsiones	0			
Enderezamiento	0			
Tono corporal	4			
Patas posteriores	0			
Convulsiones	0			
Lagrimación	0			
Micción	4			
Defecación	4			
Piloerección	4			
Nº de muertos	Ninguno			

4.4.EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA

Se realizó la eutanasia de los ratones mediante la técnica de dislocación cervical (desnucamiento), se procedió a disección y se recuperó el estómago, hígado y riñón (derecho o izquierdo) de forma que estos no pierdan su integridad. De cada uno de ellos se toman los datos de peso, longitud y ancho y se los coloca en un recipiente con formol al 10%, codificado para cada ratón y se los envía al laboratorio patológico.



**PROTOCOLO TOXICOLÓGICO DE
RATONES *Mus musculus* A LOS QUE
SE LES ADMINISTRÓ LA INFUSIÓN
DE *C. leptophyllum*.**

Código: PHP 001

Versión: 01

Página: 4

5. BIBLIOGRAFÍA

SARAVIA, A. Manual de Ensayos Toxicológicos y Farmacológicos Experimentales *In Vivo o In Vitro.*, Ed. Universitaria-universidad de San Carlos de Guatemala., Guatemala., 2005.

SANCHEZ PERERA, Luz María et al., Toxicidad aguda y subaguda oral del extracto acuoso liofilizado de *Rhizophora mangle* L. en ratas., *Rev Cubana Plant Med* vol.13n.3., *Versión On-line* ISSN 1028-4796., Habana., 2008.

VEGA MONTALVO Raiza y CARRILLO DOMÍNGUEZ Carmen., Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto fluido de *Ocimum gratissimum* L. (orégano cimarrón)., Centro de investigaciones y desarrollo de medicamentos. Departamento de investigaciones biológicas., *Revista Cubana de Plantas Medicinales.*, *Rev Cubana Plant Med* v.2 n.2., *versión On-line* ISSN 1028-4796., Habana., 1997.

CONSEJO CANADIENSE DE PROTECCIÓN DE LOS ANIMALES (CCPA)., Manual., Capítulo XII: Eutanasia. Vol. 1., 2ª edición., 1998. Pp.238.

Adecuado por:

BQF. Germán Toapanta

Tesista : Cristina Robalino

6. CONTROL DE CAMBIOS

VERSIÓN	FECHA DE APROBACIÓN	DESCRIPCIÓN DE CAMBIOS
01	Febrero 20 del 2014	Creación del documento.

ANEXO No. 4 RESULTADOS DEL ANALISIS HISTOPATOLÓGICO DE RATONES *Mus musculus* A LOS QUE SE LES ADMINISTRÓ LA INFUSIÓN DE *Cyclosporum leptophyllum*.

PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE RATONES *Mus musculus* A LOS QUE SE LES ADMINISTRARON LA INFUSIÓN DE *Cyclosporum leptophyllum*.

Fecha: 10 de diciembre 2013.

MUESTRA	EXAMEN MACROSCOPICO	EXAMEN MICROSCOPICO
B1	<p>Hígado: Peso 1,6g; largo 2,5cm; ancho 1,3cm.</p> <p>Riñón: Peso 0,6g; largo 1,2cm; ancho 0,5cm.</p> <p>Estómago: Peso 0,8g; largo 1,3cm; ancho 0,9cm.</p>	<p>Hígado: Lobulillos hepáticos de arquitectura y disposición normal; Hetatocitos de tamaño normal, no se observan depósitos en su citoplasma; Espacios porta con vasos de calibre normal. Congestión vascular</p> <p>Riñón: Glomérulo renal con membrana epitelial y de Bowman conservados; Túbulos renales de calibre normal sin depósitos en su luz. Congestión vascular</p> <p>Estómago: Mucosa integra; glándulas de forma y distribución normal; grosor de la pared muscular adecuada.</p>
T 1	<p>Hígado: Peso 1,8g; largo 3,4cm; ancho 1,1cm.</p> <p>Riñón: Peso 0,25g ; largo 1,2cm; ancho 0,7cm.</p> <p>Estómago: Peso 0,42g; largo 1,5cm; ancho 0,6cm.</p>	<p>Hígado: Lobulillos hepáticos de arquitectura y disposición normal; Hetatocitos de tamaño normal, no se observan depósitos en su citoplasma; Espacios porta con vasos de calibre normal. Congestión vascular</p> <p>Riñón: Glomérulo renal con membrana epitelial y de Bowman conservados; Túbulos renales de calibre normal sin depósitos en su luz. Congestión vascular</p> <p>Estómago: Mucosa integra; glándulas de forma y distribución normal; grosor de la pared muscular adecuada.</p>
T2	<p>Hígado: Peso 1,73g; largo 3,1cm; ancho 1,4cm.</p> <p>Riñón: Peso 0,26g; largo 1,2 cm; ancho 0,5cm.</p> <p>Estómago: Peso 0,33g; largo 1,1cm; ancho 0,8cm.</p>	<p>Hígado: Lobulillos hepáticos de arquitectura y disposición normal; Hetatocitos de tamaño normal, no se observan depósitos en su citoplasma; Espacios porta con vasos de calibre normal. Congestión vascular</p> <p>Riñón: Glomérulo renal con membrana epitelial y de Bowman conservados; Túbulos renales de calibre normal sin depósitos en su luz. Congestión vascular</p> <p>Estómago: Mucosa integra; glándulas de forma y distribución normal; grosor de la pared muscular adecuada.</p>
T3	<p>Hígado: Peso 1,94g; largo 2,3cm; ancho 2,3cm.</p> <p>Riñón: Peso 0,26g; largo 1,1cm; ancho 0,7cm.</p> <p>Estómago: Peso 0,36g; largo 1cm; ancho 0,7cm.</p>	<p>Hígado: Lobulillos hepáticos de arquitectura y disposición normal; Hetatocitos de tamaño normal, no se observan depósitos en su citoplasma; Espacios porta con vasos de calibre normal. Congestión vascular</p> <p>Riñón: Glomérulo renal con membrana epitelial y de Bowman conservados; Túbulos renales de calibre normal sin depósitos en su luz. Congestión vascular</p> <p>Estómago: Mucosa integra; glándulas de forma y distribución normal; grosor de la pared muscular adecuada.</p>

.....
Médico Patólogo: Dr. Oswaldo Duque

Jr. Oswaldo Duque Andrade
MEDICO PATOLOGO
REGISTRO # 1027

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE.

ANEXO No. 5 TIEMPO DE CICATRIZACIÓN EN DÍAS

ANOVA UN FACTOR

27/12/2013 12:16

Anova Un Factor

Número de Casos: 30

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	49.3500	3	16.4500	37.4824	0.0001E-5
Dentro Grupos	11.4107	26	0.4389		
Total (corr.)	60.7607	29			

TUKEY

27/12/2013 12:16

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 30

Método: Tukey HSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
G1	12	9.0000	X
G2	10	9.8000	X
G3	4	11.7500	X
G4	4	12.5000	X

Contraste	Diferencia	+/- Límite
G1 VS G2	*-0.8000	*0.7782
G1 VS G3	*-2.7500	*1.0493
G1 VS G4	*-3.5000	*1.0493
G2 VS G3	*-1.9500	*1.0752
G2 VS G4	*-2.7000	*1.0752
G3 VS G4	-0.7500	1.2851

* Diferencia estadísticamente significativa.

ANEXO No. 6 VARIACIÓN DIARIA DE LONGITUD DE LA HERIDA

ANOVA UN FACTOR

27/12/2013 10:41

Anova Un Factor

Número de Casos: 30

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	0.0063	3	0.0021	0.2271	0.8767
Dentro Grupos	0.2421	26	0.0093		
Total (corr.)	0.2485	29			

TUKEY

27/12/2013 10:41

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 30

Método: Tukey HSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
G3	4	0.1270	X
G4	4	0.1560	X
G1	12	0.1670	X
G2	10	0.1720	X

Contraste	Diferencia	+/- Límite
G1 VS G2	-0.0050	0.1134
G1 VS G3	0.0400	0.1528
G1 VS G4	0.0110	0.1528
G2 VS G3	0.0450	0.1566
G2 VS G4	0.0160	0.1566
G3 VS G4	-0.0290	0.1872

* Diferencia estadísticamente significativa.

ANEXO No. 7 VARIACIÓN DIARIA DEL ANCHO DE LA HERIDA

ANOVA UN FACTOR

11/12/2013 13:19

Anova Un Factor

Número de Casos: 15

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	0.0011	3	0.0004	0.0375	0.9897
Dentro Grupos	0.1039	11	0.0094		
Total (corr.)	0.1049	14			

TUKEY

11/12/2013 13:22

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 15

Método: Tukey HSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
Balnco	2	0.0174	X
Trat control	2	0.0209	X
Trat 50	5	0.0375	X
Trat 100	6	0.0385	X

Contraste	Diferencia	+/- Límite
Trat 100 VS Trat 50	0.0010	0.1771
Trat 100 VS Trat control	0.0176	0.2388
Trat 100 VS Balnco	0.0211	0.2388
Trat 50 VS Trat control	0.0166	0.2447
Trat 50 VS Balnco	0.0201	0.2447
Trat control VS Balnco	0.0035	0.2924

* Diferencia estadísticamente significativa.

ANEXO No. 8 LONGITUD DE LA CICATRIZ AL FINAL DEL TRATAMIENTO

ANOVA UN FACTOR

26/12/2013 15:16
Anova Un Factor

Número de Casos: 30

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	0.9183	3	0.3061	3.5238	0.0289
Dentro Grupos	2.2586	26	0.0869		
Total (corr.)	3.1769	29			

TUKEY

26/12/2013 15:18
Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 30

Método: LSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
G2	10	0.9500	X
G1	12	0.9700	X
G3	4	1.3300	X
G4	4	1.3800	X

Contraste	Diferencia	+/- Limite
G1 VS G2	0.0200	0.2594
G1 VS G3	*-0.3600	*0.3498
G1 VS G4	*-0.4100	*0.3498
G2 VS G3	*-0.3800	*0.3584
G2 VS G4	*-0.4300	*0.3584
G3 VS G4	-0.0500	0.4284

* Diferencia estadísticamente significativa.

ANEXO No. 9 ANCHO DE LA CICATRIZ AL FINAL DEL TRATAMIENTO

ANOVA UN FACTOR

26/12/2013 15:42

Anova Un Factor

Número de Casos: 30

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	0.1359	3	0.0453	0.9934	0.4114
Dentro Grupos	1.1858	26	0.0456		
Total (corr.)	1.3217	29			

TUKEY

26/12/2013 15:43

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 30

Método: LSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
G1	12	0.3300	X
G4	4	0.3500	X
G3	4	0.4300	X
G2	10	0.4800	X

Contraste	Diferencia	+/- Limite
G1 VS G2	-0.1500	0.1880
G1 VS G3	-0.1000	0.2534
G1 VS G4	-0.0200	0.2534
G2 VS G3	0.0500	0.2597
G2 VS G4	0.1300	0.2597
G3 VS G4	0.0800	0.3104

* Diferencia estadísticamente significativa.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTIDIARRÉICA

ANEXO No. 10 TIEMPO DE LA PRIMERA DEPOSICIÓN

ANOVA UN FACTOR

02/01/2014 07:31

Anova Un Factor

Número de Casos: 28

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	1966.1542	4	491.5385	0.3443	0.8452
Dentro Grupos	32837.4152	23	1427.7137		
Total (corr.)	34803.5694	27			

TUKEY

02/01/2014 07:32

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 28

Método: Tukey HSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
contr-	4	20.0000	X
blanco	4	25.0000	X
trat 50%	8	25.8300	X
trat 100%	8	30.6300	X
contr +	4	48.2500	X

Contraste	Diferencia	+/- Limite
blanco VS contr +	-23.2500	78.9814
blanco VS contr-	5.0000	78.9814
blanco VS trat 100%	-5.6300	68.3999
blanco VS trat 50%	-0.8300	68.3999
contr + VS contr-	28.2500	78.9814
contr + VS trat 100%	17.6200	68.3999
contr + VS trat 50%	22.4200	68.3999
contr- VS trat 100%	-10.6300	68.3999
contr- VS trat 50%	-5.8300	68.3999
trat 100% VS trat 50%	4.8000	55.8483

* Diferencia estadísticamente significativa.

ANEXO No. 11 PESO DE LAS HECES

ANOVA UN FACTOR

02/01/2014 17:31
Anova Un Factor

Número de Casos: 20

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	4.8434	4	1.2108	24.6608	0.0002E-2
Dentro Grupos	0.7365	15	0.0491		
Total (corr.)	5.5799	19			

TUKEY

02/01/2014 17:31
Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 20

Método: LSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
blanco	2	0.5670	X
Control +	2	0.7140	X
Trat 50%	6	0.8070	X
control -	2	1.5150	X
trat 100%	8	1.7540	X

Contraste	Diferencia	+/- Limite
trat 100% VS Trat 50%	*0.9470	*0.2551
trat 100% VS Control +	*1.0400	*0.3734
trat 100% VS control -	0.2390	0.3734
trat 100% VS blanco	*1.1870	*0.3734
Trat 50% VS Control +	0.0930	0.3856
Trat 50% VS control -	*-0.7080	*0.3856
Trat 50% VS blanco	0.2400	0.3856
Control + VS control -	*-0.8010	*0.4723
Control + VS blanco	0.1470	0.4723
control - VS blanco	*0.9480	*0.4723

* Diferencia estadísticamente significativa.

TOXICIDAD

ANEXO No. 12 VARIACIÓN DE PESO.

ANOVA

03/01/2014 12:09

Anova Un Factor

Número de Casos: 7

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	18.9886	3	6.3295	1.1510	0.4553
Dentro Grupos	16.4973	3	5.4991		
Total (corr.)	35.4859	6			

TUKEY

03/01/2014 12:09

Anova Un Factor, Comparaciones Múltiples

Número de Casos: 7

Método: Tukey HSD al 95.00%

	N	Media	Grupos Homogéneos
R3	2	0.4000	X
CONTROL	1	2.3000	X
R1	2	3.4200	X
R2	2	4.6000	X

Contraste	Diferencia	+/- Límite
R1 VS R2	-1.1800	11.3143
R1 VS R3	3.0200	11.3143
R1 VS CONTROL	1.1200	13.8571
R2 VS R3	4.2000	11.3143
R2 VS CONTROL	2.3000	13.8571
R3 VS CONTROL	-1.9000	13.8571

* Diferencia estadísticamente significativa.

ANEXO No. 13 TAMIZAJE FITOQUÍMICO. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA Y FARMACOLOGÍA. OCTUBRE 2013



ANEXO No. 14 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE *Cyclopermum leptophyllum*.

Día 1



Día 3



Día 6



Día 9



ANEXO No.15 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIDIARRÉICA DE *Cyclosporum leptophyllum*.



Tratamientos a administrar



Administración



Heces normales



Heces blandas



Heces Diarréicas



ANEXO No.16 HOJA DE ANÁLISIS DE LA COMBINACIÓN DE ACETATO DE PREDNISOLONA SULFATO DE NEOMICINA

HOJA DE ANÁLISIS DE MEDICAMENTOS	
Principio activo	Cada 100 g contiene: Acetato de prednisolona 0,5g Sulfato de neomicina 0,5
Nombre comercial	LAMODERM ®
Lote	05171605
Forma farmacéutica	Crema
Vía de administración	Tópica

ANEXO No.17 HOJA DE ANÁLISIS DE LA LOPERAMIDA

HOJA DE ANÁLISIS DE MEDICAMENTOS	
Principio activo	Loperamida 2 mg
Nombre comercial	LOPERAMIN
Forma farmacéutica	Cápsula
Vía de administración	Oral