



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE GELES
ELABORADOS A PARTIR DE EXTRACTOS LIPÍDICOS, ETANÓLICOS Y
SAPONINAS DE DOS VARIEDADES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa willd*),
SOBRE HERIDAS PRODUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)”**

TESIS DE GRADO

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:

ANDREA LISBETH VILLARREAL ARÉVALO

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme sabiduría y fuerza para cumplir mis sueños y tomar las decisiones correctas.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo - ESPOCH por los conocimientos impartidos que me ha brindado. Al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias - INIAP Y Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación - SENESCYT por el financiamiento proporcionado para la realización del trabajo investigativo. A la Universidad Nacional de Chimborazo- UNACH por las facilidades proporcionadas durante el desarrollo de la investigación.

A mis Padres, Hermanos, Novio y Familia por su apoyo incondicional.

A la Dra. Lourdes Cuadrado por brindarme la oportunidad de trabajar junto a ella. A la Ing. Elena Villacrés por apoyar el proyecto investigado.

Al BQF. Diego Vinueza T, M.Sc. y BQF. Fausto Contero por la colaboración y asesoramiento para el trabajo de Tesis. Y a todas las personas que colaboraron en esta investigación.

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a Dios por siempre bendecir mi camino.

A mis padres Roberto y Zoila por todo el apoyo, cariño, comprensión, por enseñarme que perseverando se alcanzan los sueños, por ser el pilar fundamental en mi vida académica y personal.

A mi Mamita Chano por siempre apoyarme en todo y compartir su vida conmigo. A mis Tíos Luis y Edith por inculcarme el anhelo de superarme.

A mis Hermanos, cuñados y sobrinos por su apoyo incondicional, a Diego Salazar por alentarme a cumplir mis metas. Gracia a toda mi familia por apoyarme y estar siempre pendiente de mi dándome fuerzas para seguir superándome.

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

ANDREA LISBETH VILLARREAL ARÉVALO

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

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE GELES ELABORADOS A PARTIR DE EXTRACTOS LIPÍDICOS, ETANÓLICOS Y SAPONINAS DE DOS VARIEDADES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa willd*), SOBRE HERIDAS PRODUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)**” de responsabilidad de la señorita egresada Andrea Lisbeth Villarreal Arévalo, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. César Ávalos Infante DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS	-----	-----
Dra. Ana Karina Albuja DIRECTOR DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA	-----	-----
BQF. Diego Vinueza T. M.Sc. DIRECTOR DE TESIS	-----	-----
BQF. Fausto Contero MIEMBRO DE TRIBUNAL	-----	-----
Ing. Eduardo Tenelanda COORDINADOR SISBIB – ESPOCH	-----	-----
NOTA DE TESIS ESCRITA -----		

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ANEXOS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

1.	MARCO TEÓRICO	1
1.1.	FITOTERAPIA	1
1.1.1.	<i>FITOMEDICINA</i>	2
1.1.2.	<i>GARANTÍA DE CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS A BASE DE DROGAS VEGETALES Y FITOPREPARADOS</i>	3
1.1.3.	<i>ENSAYOS CLÍNICOS, ESTUDIOS DE FARMACOCINÉTICA Y BIODISPONIBILIDAD</i>	4
1.1.4.	<i>EL COMERCIO DE LAS PLANTAS MEDICINALES, AROMÁTICAS Y DE LOS FITOPREPARADOS</i>	5
1.2.	QUINUA	5
1.2.1.	QUINUA EN EL ECUADOR	7
1.2.2.	TAXONOMÍA DE LA QUINUA	8
1.2.3.	<i>COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA DE LA QUINUA</i>	9
1.2.4.	<i>PRINCIPALES GRUPOS FITOQUÍMICOS PRESENTES EN LA QUINUA</i>	11
1.2.5.	<i>USOS MEDICINALES</i>	17
1.2.6.	<i>VARIETADES DE LA QUINUA</i>	17
1.3.	PIEL	19
1.3.1.	<i>CAPAS DE LA PIEL</i>	19
1.4.	HERIDAS	22
1.4.1.	CLASIFICACIÓN DE LAS HERIDAS	22
1.5.	CICATRIZACIÓN	23
1.5.1.	FASES DE LA CICATRIZACIÓN	23
1.5.2.	<i>TIPOS DE CICATRIZACIÓN DE LA HERIDA</i>	25

1.5.3.	TRATAMIENTOS MEDICAMENTOSOS TÓPICOS	26
1.5.4.	TROLAMINA	28
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	29
2.1.	LUGAR DE INVESTIGACIÓN	29
2.2.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	29
2.2.1.	MATERIALES.....	29
2.3.	MÉTODOS Y TÉCNICAS	32
2.3.1.	OBTENCIÓN DE EXTRACTOS	32
2.3.2.	ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE QUINUA (<i>Chenopodium quinoa willd</i>)	34
2.3.3.	BIOENSAYO DE TOXICIDAD EN <i>Artemia salina</i>	36
2.3.4.	DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL 50 (DL 50)	37
2.3.5.	ENSAYO DE IRRITABILIDAD.....	39
2.3.6.	CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES	40
2.3.7.	ELABORACIÓN DEL GEL	46
2.3.8.	CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES	47
2.3.9.	EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LOS GELES ELABORADOS A PARTIR DE DOS VARIEDADES DE QUINUA EN RATONES (<i>Mus musculus</i>)	48
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
3.1.	EVALUACIÓN DE LOS EXTRACTOS	50
3.2.	ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE LA QUINUA.....	51
3.3.	BIOENSAYO DE TOXICIDAD SOBRE <i>Artemia salina</i>	53
3.4.	EVALUACIÓN DE LA DOSIS LETAL 50.....	59
3.5.	CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA	63
3.5.1.	AGUA PURIFICADA	63
3.5.2.	CARBOPOL.....	64
3.5.3.	CRODURET	65
3.5.4.	DIMETICONA	65
3.5.5.	GLICERINA.....	66
3.5.6.	GOMA XANTAN.....	67
3.5.7.	METILPARABENO SÓDICO	67
3.5.8.	PROPIL PARABENO SÓDICO	68

3.5.9.	TRIETANOLAMINA	69
3.5.10.	TWEEN 80 (POLISORBATO 80).....	70
3.6.	CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO.....	71
3.7.	ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS GELES ETANÓLICOS, LIPÍDICOS Y DE SAPONINAS A PARTIR DE QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN	74
2.8.	EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA	83
4.	CONCLUSIONES	87
5.	RECOMENTACIONES.....	89
	BIBLIOGRAFÍA	90

INDICE DE ABREVIATURAS

cm	Centímetro
cm²	Centímetro cuadrado
Conc.	Concentración
CL50	Concentración letal 50
DMSO	Dimetilsulfóxido
DL50	Dosis letal 50
USP	Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica
ECB 1%	Gel de extracto Etanólico Quinoa Criolla Blanca 1%
ECB.2%	Gel de extracto Etanólico Quinoa Criolla Blanca 2%
ET 1%	Gel de extracto Etanólico Quinoa Tunkahuan 1%
ET2 %	Gel de extracto Etanólico Quinoa Tunkahuan 2%
LCB 1%	Gel de extracto Lipídico Quinoa Criolla Blanca 1%
LCB 2%	Gel de extracto Lipídico Quinoa Criolla Blanca 2%
LT 1%	Gel de extracto Lipídico Quinoa Tunkahuan 1%
LT 2%	Gel de extracto Lipídico Quinoa Tunkahuan 2%
SCB 1%	Gel de extracto de Saponinas Quinoa Criolla Blanca 1%
SCB.2%	Gel de extracto de Saponinas Quinoa Criolla Blanca 2%
ST 1%	Gel de extracto de Saponinas Quinoa Tunkahuan 1%
ST2%	Gel de extracto de Saponinas Quinoa Tunkahuan 2%
°C	Grado Celsius
g	Gramo
h	Hora
hm²	Hectárea
Kg	Kilogramo
Km	Kilómetro
L	Litro
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetros
min	Minuto

M.P.S	Metil Parabeno sódico
N	Normalidad
P.P.S.	Propil Parabeno sódico
ppm	Partes por millón
AOAC	La Asociación de las Comunidades Analíticas
TEA	Trietanolamina
ufc	Unidades formadoras de colonia
μL	Microlitro

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1:	EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO Y LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE CADA EXTRACTO.	51
CUADRO N° 2:	ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE LA Q. CRIOLLA BLANCA Y Q. TUNKAHUAN	52
CUADRO N° 3:	RESULTADOS DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DE QUINUA: TUNKAHUAN Y CRIOLLA BLANCA	59
CUADRO N° 4:	RESULTADOS DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO DE SAPONINAS DE LA QUINUA TUNKAHUAN	60
CUADRO N° 4:	RESULTADOS DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO DE SAPONINAS DE LA QUINUA TUNKAHUAN Y CRIOLLA BLANCA (Continuación)	61
CUADRO N° 5:	RESULTADO DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO LIPÍDICO DE QUINUA TUNKAHUAN Y CRIOLLA BLANCA	62
CUADRO N° 6:	CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA PURIFICADA	63
CUADRO N° 6:	CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA PURIFICADA (Continuación)	64
CUADRO N° 7:	CONTROL DE CALIDAD CARBOPOL	64
CUADRO N° 8:	CONTROL DE CALIDAD DEL CRODURET	65
CUADRO N° 9:	CONTROL DE CALIDAD DE LA DIMETICONA	65
CUADRO N°10:	CONTROL DE CALIDAD GLICERINA	66
CUADRO N°11:	CONTROL DE CALIDAD DE LA GOMA XANTAN	67
CUADRO N°12:	CONTROL DE CALIDAD METIL PARABENO SÓDICO	67
CUADRO N°12:	CONTROL DE CALIDAD METIL PARABENO SÓDICO (Continuación)	68
CUADRO N°13:	CONTROL DE CALIDAD PROPIL PARABENO SÓDICO	68
CUADRO N°14:	CONTROL DE CALIDAD DE LA TRIETANOLAMINA	69

CUADRO N°15:	CONTROL DE CALIDAD DE TWEEN 80	70
CUADRO N°16:	CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES DE EXTRACTOS LIPÍDICOS	71
CUADRO N°17:	CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES DE EXTRACTOS ETANÓLICOS	72
CUADRO N°18:	CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES DE EXTRACTOS DE SAPONINAS	73
CUADRO N°19	ÁREA DE CICATRIZACIÓN DURANTE 15 DÍAS	75
CUADRO N°20	ÁREA BAJO LA CURVA DE LOS TRATAMIENTOS DE LA SUPERFICIE CICATRIZADA A TERMINO DEL PERIODO DE ESTUDIO	79
CUADRO N° 21:	ANÁLISIS ESTADÍSTICO ANOVA DE UN FACTOR	80
CUADRO N°22:	TEST POST CONFIRMATORIO DUNNETT'S	81
CUADRO N°23:	TEST POST CONFIRMATORIO TUKEY	82
CUADRO N°23:	TEST POST CONFIRMATORIO TUKEY (Continuación)	83
CUADRO N°24:	EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA A LAS 15 Y 21 DÍAS DESPUES DE LA APLICACIÓN DEL GEL	85

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1:	QUINUA	5
FIGURA N° 2:	QUINUA (<i>Chenopodium quinoa</i>)	8
FIGURA N° 3:	ÁCIDO OLEANÓLICO	13
FIGURA N° 4:	HEDERAGENINA	13
FIGURA N° 5:	TOCOFEROL α	16
FIGURA N° 6:	TOCOFEROL γ	16
FIGURA N° 7:	ECDISONA	16
FIGURA N° 8:	COMPOSICIÓN NUTRICIONAL VARIEDAD QUINUA TUNKAHUAN	18
FIGURA N° 9:	ESTRUCTURA DE LA PIEL	19
FIGURA N° 10:	CAPAS DE LA EPIDERMIS	21
FIGURA N° 11:	FASES DE LA CICATRIZACIÓN	25
FIGURA N° 12:	DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN <i>Artemia salina</i> DEL EXTRACTO ETANÓLICO QUINUA TUNKAHUAN.	43
FIGURA N° 13:	DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN <i>Artemia salina</i> DEL EXTRACTO ETANÓLICO QUINUA CRIOLLA BLANCA.	54
FIGURA N° 14:	DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN <i>Artemia salina</i> DEL EXTRACTO LIPÍDICO DE QUINUA TUNKAHUAN.	55
FIGURA N° 15:	DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN <i>Artemia salina</i> DEL EXTRACTO LIPÍDICO DE QUINUA CRIOLLA BLANCA	56
FIGURA N° 16:	DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN <i>Artemia salina</i> DEL EXTRACTO DE SAPONINAS DE QUINUA TUNKAHUAN.	57
FIGURA N° 17:	DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN <i>Artemia salina</i> DEL EXTRACTO DE SAPONINAS DE CRIOLLA BLANCA	58

INDICE DE GRAFICOS

GRAFICO N° 1:	PRINCIPALES PAÍSES DE DESTINO DE LA QUINUA ECUATORIANA	8
GRAFICO N° 2:	EVALUACIÓN DE LA HERIDA DE LOS GELES CON EXTRACTO LIPÍDICO DE VARIEDAD CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUAN	76
GRAFICO N° 3:	EVALUACIÓN DE LA HERIDA DE LOS GELES CON EXTRACTO ETANÓLICO DE VARIEDAD CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUAN	77
GRAFICO N° 4:	EVALUACIÓN DE LA HERIDA DE LOS GELES CON EXTRACTO SAPONINAS DE VARIEDAD CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUAN	78

INDICE DE TABLAS

TABLA N° 1:	COMPOSICIÓN AMINOCÍDICA (100 GR. DE PRODUCTO) DE LA QUINUA EN COMPARACIÓN CON EL TRIGO Y LA LECHE.	6
TABLA N° 2:	GRUPOS FITOQUÍMICOS PRESENTES EN GRANOS Y HOJAS DE QUINUA.	10
TABLA N° 3:	CONTENIDO DE FLAVONOIDES EN LOS GRANOS DE QUINUA	11
TABLA N° 4:	CONTENIDO DE SAPONINAS EN GRANOS DE QUINUA EN ESTADO CRUDO MEDIANTE EL ENSAYO DE ESPUMA.	14
TABLA N° 5:	PERFIL LIPÍDICO DE LAS VARIEDADES DE QUINUA: CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUAN (% FRESCO)	15
TABLA N° 6:	CONTENIDO DE TOCOFELORES DE LAS VARIEDADES DE QUINUA: CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUAN (% FRESCO)	15

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1:	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO	99
ANEXO N° 2:	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO LIPÍDICO	100
ANEXO N° 3:	OBTENCIÓN DE SAPONINAS	102
ANEXO N° 4:	ANÁLISIS FITOQUÍMICO	103
ANEXO N° 5:	DIAGRAMA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL EN <i>Artemia salina</i> PARA DOS VARIEDADES DE QUINUA: QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN	104
ANEXO N° 6:	CLASIFICACIÓN DE LOS TOXICOS EN EL MÉTODO DE TOXICIDAD AGUDA EN <i>Artemia salina</i> .	106
ANEXO N° 7:	DIAGRAMA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL EN RATONES (<i>Mus musculus</i>)	107
ANEXO N° 8:	PAUTAS DE OBSERVACIÓN DE LA DL50	108
ANEXO N° 9:	PARÁMETROS EVALUADOS EN LAS PAUTAS DE OBSERVACIÓN	109
ANEXO N° 10:	ENSAYO DE IRRITABILIDAD	110
ANEXO N° 11:	FORMULACIÓN DE LOS GELES A BASE DE QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAGUAN A PARTIR DE EXTRACTOS LIPÍDICOS, ETANÓLICOS Y DE SAPONINAS.	111
ANEXO N° 12:	DIAGRAMA PARA LA ELABORACIÓN DE GELES A PARTIR DE EXTRACTOS LIPÍDICOS, ETANÓLICOS Y DE SAPONINAS DE DOS VARIEDADES DE QUINUA: QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN.	112
ANEXO N° 13:	DIAGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES ELABORADOS A PARTIR EXTRACTOS LIPÍDICOS, ETANÓLICOS Y SAPONINAS DE DOS VARIEDADES DE QUINUA: QUINUA CRIOLLA	113

	BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN	
ANEXO N° 14:	DIAGRAMA PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE GELES ELABORADOS A EXTRACTOS LIPÍDICOS, ETANÓLICOS Y SAPONINAS DE DOS VARIEDADES DE QUINUA: QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN.	114
ANEXO N° 15:	APLICACIÓN DEL GEL Y EVOLUCION DE LA HERIDA	115
ANEXO N° 16:	ÁREA NO CICATRIZADA DE LA HERIDA DURANTE 15 DÍA	116
ANEXO N ° 17:	EVOLUCIÓN DE LA HERIDA DURANTE 15 DÍAS	117
ANEXO N° 18:	DIAGRAMA DE EVALUACIÓN DE HISTOPATOLÓGICA	120

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1:	MOLIENDA DE QUINUA (<i>Chenopodium quinoa</i> Wild)	99
FOTOGRAFÍA N° 2:	MACERACIÓN DE QUINUA Y ALCOHOL	99
FOTOGRAFÍA N° 3:	CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN	100
FOTOGRAFÍA N° 4:	MACERACIÓN CON HEXANO PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS LIPÍDICOS	100
FOTOGRAFÍA N° 5:	MÉTODO SOXHLET Y CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO LIPÍDICO DE LAS DOS VARIEDADES DE QUINUA	101
FOTOGRAFÍA N° 6:	MACERACIÓN Y EXTRACCIÓN CON n-BUTANOL	102
FOTOGRAFÍA N° 7:	DISMINUCIÓN DE LA ACTIVIDAD MOTORA PASIVO	109
FOTOGRAFÍA N° 8:	PASIVO	109
FOTOGRAFÍA N° 9:	ACTIVIDAD PRENSIL	109
FOTOGRAFÍA N° 10:	ERECCIÓN DE LA COLA	109
FOTOGRAFÍA N° 11:	EQUILIBRIO	109
FOTOGRAFÍA N° 12:	REFLEJO CORNEAL	109
FOTOGRAFÍA N° 13:	ERECCCIÓN DEL PILO	109
FOTOGRAFÍA N° 14:	TEST DE CHIMENEA	109
FOTOGRAFÍA N° 15:	MORTALIDAD	109

RESUMEN

Se realizó la evaluación de la actividad cicatrizante de geles elaborados a partir de extractos lipídicos, etanólicos y de saponinas de Quinoa Criolla Blanca y Tunkahuan. Esta investigación se llevó a cabo en el Bioterio de la UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO, en la industria farmacéutica NEOFARMACO y Laboratorio de Fitoquímica de la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO. Con la finalidad de obtener un fitofármaco que participe directamente en el proceso de cicatrización.

Se aplicaron metodologías para la obtención de los extractos: técnicas de maceración para el extracto etanólico, método de soxhlet para los extracto lipídico y extracciones exhaustivas con n-Butanol para el extracto de saponinas. También se evaluó la toxicidad en Artemia salina y ratones (*Mus musculus*). Estos fueron evaluados por su comportamiento durante 7 días. Se realizaron ensayos de control de calidad de materia prima y excipientes, evaluando parámetros físicos como: pH, densidad, extensibilidad y microbiológicos. El gel se elaboró a dos concentraciones 1% y 2%. La actividad cicatrizante fue evaluada en heridas producidas en el lomo del ratón (*Mus musculus*), aplicando el gel dos veces al día y midiendo el área de la herida durante 15 días.

Los resultados fueron analizados con el TEST de ANOVA y DUNNETT'S el extracto lipídico de Quinoa Tunkahuan al 1% presentó una disminución de la herida partiendo de 0,878 cm² y llegando alcanzar un área de 0,012 cm². Mientras que el extracto lipídico Tunkahuan 2% y extracto de saponinas Quinoa Criolla Blanca 1% también presentan actividad cicatrizante alcanzando áreas de 0,0117 y 0,0163 cm².

El gel con extracto lipídico de Quinoa Tunkahuan al 1% presentó mayor actividad cicatrizante, por la presencia de Aceites grasos que favorecen al proceso de cicatrización. Por lo que se recomienda realizar posteriores estudios para que la industria farmacéutica pueda comercializar este tipo de fitofármacos.

SUMMARY

Evaluating the healing activity of gels made from lipid, and ethanolic Criollo Quinoa saponin and Tunkahuan White extracts was performed. This research was conducted in the Bioterio UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO, in the pharmaceutical industry and Laboratory of Phytochemistry NEOFARMACO the ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO. In order to obtain a phytodrug directly involved in the healing process.

Maceration techniques for the ethanol extract, soxhlet method for lipid extract and exhaustive extraction with n-butanol to extract saponins: methodologies for obtaining extracts were applied. Toxicity also *Artemia salina* and mice (*Mus musculus*) was evaluated. These were assessed by their behavior during 7 days. Quality control testing of raw material and excipients is performed, evaluating physical parameters such as: pH, density, and microbiological extensibility. The gel was prepared at two concentrations 1% and 2%. The healing activity was evaluated in wounds in the back of the mouse (*Mus musculus*), applying the gel twice a day and measuring the area of the wound for 15 days.

The results were analyzed with ANOVA and DUNNETT'S lipid extract Quinoa Tunkahuan 1% showed a decrease in the wound starting from 0,878 cm² and arriving achieve an area of 0,012 cm². While the lipid extract Tunkahuan 2% saponin extract Quinoa Criolla Blanca 1% also have healing activity areas reaching 0,0117 and 0,0163 cm².

The lipid extract gel with 1% Quinoa Tunkahuan had higher healing activity, the presence of fatty oils that promote the healing process. It is recommended that further studies for the pharmaceutical industry to market this type of herbal medicines.

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador existen pocos fármacos que se utilizan como cicatrizantes, existen algunos que solo ayuda a mejorar la apariencia de la herida y sus precios son muy altos, por lo cual la gente de bajos recursos económicos no puede acceder a estos fármacos. Por otro lado, el Ministerio de Salud Pública facilita medicamentos de uso dermatológicos a hospitales públicos para que puedan cubrir la necesidades del sector urbano como rural (Comisión Nacional de Medicamentos e Insumos, 2013). El país cuenta con los siguientes productos de uso dermatológico: antibióticos y antifúngicos. Estos productos son destinados a evitar infecciones y complicaciones mayores en las heridas. (COMISIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS E INSUMOS, 2013)

Además, el consumo excesivo de estos productos químicos puede llegar a ser tóxicos para la salud, provocado hipersensibilidad en la piel, alergia, dejando a la piel más sensible frente a microorganismos u otras lesiones que pueden causar más daño. (RASSNER, 1999).

En el Ecuador, las plantas medicinales han sido utilizadas ancestralmente por los pueblos indígenas, como una fuente natural para curar y prevenir enfermedades. Desde la antigüedad se ha utilizado las plantas no solo por sus propiedades nutritivas sino por sus usos medicinales. Las partes más utilizadas en este tipo de medicina son las hojas, tallos, flores y en algunos caso toda la planta. El Ecuador, cuenta con una diversidad de flora medicinal, el 76% de plantas son nativas. (INIAP, 2011)

La quinua (*Chenopodium quinoa wild*) es un pseudocereal ancestral, cultivado en el Ecuador, este es un producto propio del país. (INIAP, 2011) (Mujica, Izquierdo, &Marathee, 2009). Existen diferentes variedades de quinua obtenidas de diferentes combinaciones de germoplasmas de otras variedades provenientes de Bolivia, Perú y Ecuador. (NIETO, PERALTA, Y CASTILLO, 1986).

Además, la quinua presenta propiedades medicinales como antiinflamatorias, diuréticas, analgésicas y cicatrizantes. (MUÑOZ M. T., 2009). Todo esto se debe a la presencia de varios metabolitos secundarios como: Flavonoides, Saponinas, Fitoesteroles. (MUÑOZ M. T., 2009). Hoy en día, estas alternativas naturales no sólo son utilizadas por

el sector rural sino por el sector urbano. Por su bajo precio, accesibilidad, en especial del sector rural debido a que no tienen acceso completo a medicamentos. (DE LATORRE, ALARCÓN, et al, 2008)

Por lo tanto, esta investigación tiene como objetivo evaluar la actividad cicatrizante de geles elaborados a partir de dos variedades de quinua: Quinoa Criolla blanca y Quinoa Tunkahuan. Con diferentes extractos a partir de cada variedad: Extracto etanólico, extracto lipídico y saponinas, comprobando que variedad y extracto presenta mejor efecto. Con el fin de facilitar un producto accesible al paciente y de forma natural que pueda participar en el proceso de cicatrización y evitar el efecto toxico que pueden producir los productos químicos.

CAPITULO 1

1. MARCO TEÓRICO

1.1. FITOTERAPIA

Es la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir o para curar una enfermedad. (MARTÍNEZ, RODRÍGUEZ & PRIETO, 2005)

En el vegetal la actividad de la planta puede localizarse en: raíz, corteza del tronco, hojas de un árbol o arbusto, semillas, flores y frutos. El efecto biológico de la planta depende del metabolismo secundario que se encuentre en ella. (MARCANO y HASEGAWA, 2002). La Farmacognosia es la ciencia que estudia las plantas con fines terapéuticos, siendo los principios activos aquellas sustancias responsables de la acción farmacológica de las drogas. (BRUNETON, 1993)

La mayoría de los principios activos se obtienen del metabolismo secundario de la planta; se encuentran raramente superiores al 1%, son por ello moléculas poco abundantes e inmersas en células vegetales junto a otras moléculas, muchas de las cuales presentan estructuras muy relacionadas. (CORTES, INMACULADA, BERMEJO, & ZAFRA, 2003)

Estas sustancias se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos delimitados. Son responsables del olor, sabor, color y de sus propiedades medicinales. (ACERO DE MESA Y LINARES, 2007.). Estos metabolitos no tienen función en el crecimiento y desarrollo de la planta, son mecanismos de defensa de la planta. Los principales metabolito secundarios encontrados en plantas son: Triterpenos, fenoles, catequinas, resinas, taninos, lactonas, saponinas, quinonas, flavonoides, alcaloides y lípidos. (TAIZ Y ZEIGER, 2006).

1.1.1. FITOMEDICINA

Es la utilización de productos vegetales analizados previamente por ensayos clínicos, conociendo su mecanismo de acción, interacción con otros productos, efectos adversos o contraindicaciones. (HERNANDEZ, 2005)

Estos productos deben presentar 3 bases científicas: eficacia, seguridad y calidad.

- Eficacia: Para conocer la causa- efecto del producto es importante conocer el principio activo para determinar la acción farmacológica que presenta y el mecanismo de acción, si son mezcla de sustancias entonces será el conjunto de sustancias que presentan acción farmacológica. Por lo tanto se deben realizar ensayos farmacológicos experimentales *invivo o in vitro*. (CAÑIGUERAL, 2002)
- Seguridad: Los productos de origen vegetal no están excentricos de presentar toxicidad, efecto adverso, contraindicaciones e interacciones, por lo tanto, se debe evaluar la toxicidad aguda de estos productos. (CAÑIGUERAL, 2002)
- Calidad: es el requisito básico debido a que los fitofármacos son productos de mezclas de varias sustancias, los principios activos no son muy estudiados, no existen muchos métodos de análisis selectivos, el proceso de extracción, varios parámetros. Por eso es importante la calidad desde el proceso de recolección de la materia prima, como el proceso de fabricación, producto final y ensayos de estabilidad. Los requisitos, especificaciones y normativa se puede encontrar en la Farmacopea Europea, la cual cada vez complementa sus ediciones con nuevas monografías de drogas vegetales. (CAÑIGUERAL, 2002)

Estos 3 elementos son muy importantes, facilitando al consumidor un producto apto para su uso, que presente características adecuadas siguiendo las normas de calidad, obteniendo un producto seguro, veraz y accesible. (HERNDEZ, 2005)

La Organización Mundial de la Salud desde la década de los 90 se ha encargado de potenciar el uso racional y científico de las plantas, proporcionando monografías que contienen los aspectos de eficacia, seguridad y calidad. (HERNDEZ, 2005). En 2002, esta organización

planteó estrategias para incluir las medicinas complementarias y alternativas en la salud pública, para que los gobiernos aprovechen estas alternativas terapéuticas e integren a sus sistemas de salud. Así, se ha dado a conocer este tipo de terapias con los estudios respectivos que respaldan los resultados de la utilización de estos productos.(AVELLO Y CISTERNAS, 2010)

1.1.2. GARANTÍA DE CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS A BASE DE DROGAS VEGETALES Y FITOPREPARADOS

Varios países han creado organismos para el control de calidad de los fitomedicamentos. Los medicamentos están sujetos a varios controles como: ensayos y especificaciones de identidad, pureza, contenido de sustancias con actividad farmacológica o marcador de la droga vegetal, garantía de conservación de la especie y ensayos microbiológicos. (WAGNER, 2006)

La federación internacional de asociaciones de fabricantes de medicamentos ha presentado la iniciativa sobre los requisitos de calidad a nivel global. Además, algunos países también están desarrollando su propia legislación, elaborando sus propias monografías que recogen los estándares de calidad aplicables a los fitofármacos del mercado farmacéutico. (WAGNER, 2006)

La garantía de calidad comienza desde la correcta identificación taxonómica de la planta, este es el primer error que se puede cometer, debido a que existe una gran variedad de plantas, de género y especie. Por lo tanto este primer paso debe realizarse de manera correcta. (WAGNER, 2006)

Para poder desarrollar un fitomedicamento siguiendo los requisitos internacionales de calidad, seguridad y eficacia se debe:

- Aislamiento y elucidación estructural de los compuestos químicos que poseen actividad farmacológica: Se puede utilizar técnicas cromatográficas y espectroscópicas, utilizando métodos selectivos y específicos.

- Identificación de los principales principios activos: puede existir una mezcla de compuestos que juntos presenten la acción farmacológica o exista sinergia entre ellos, por lo tanto se debe realizar una cuantificación con un marcador o un grupo de compuestos. Para la estandarización deberá ser dirigido para 2 o 3 compuestos que presenten una alta actividad farmacológica.
- La estandarización del fitomedicamento es muy importante, se puede aplicar técnicas cromatográficas, con el fin de estandarizar los procedimientos a nivel mundial, debido a que las regulaciones entre países puede diferir. (WAGNER, 2006)

1.1.3. ENSAYOS CLÍNICOS, ESTUDIOS DE FARMACOCINÉTICA Y BIODISPONIBILIDAD

Los ensayos clínicos son importantes para evaluar la eficacia del fitofármaco en el organismo. Para ellos se han tomado en cuenta los ensayos doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo, siendo estos los de mejor nivel para evaluar la eficacia de los fármacos tanto sintéticos como vegetales. (WAGNER, 2006)

Para evaluar la biodisponibilidad y el perfil farmacocinético de fitomedicamentos en el organismo, se puede determinar cualitativamente o cuantitativamente el principio activo que se encuentra en la orina, plasma, y otros fluidos corporales. (WAGNER, 2006)

En la Agencia Europea de medicamentos existen guías para el control de calidad y normas de fabricación para la elaboración de productos a base de plantas. En cuanto a los requisitos para la eficacia, los medicamentos a base de plantas es necesario de manera obligatoria los ensayos clínicos. (WAGNER, 2006)

1.1.4. EL COMERCIO DE LAS PLANTAS MEDICINALES, AROMÁTICAS Y DE LOS FITOPREPARADOS

Las plantas han sido utilizadas desde la antigüedad, nuestros ancestros han aprovechados las propiedades medicinales de las mismas. Se estima que existen 10.000 especies vegetales empleadas en medicina tradicional. Por ejemplo en China se utiliza el 40 % del total en medicina tradicional, en Europa 2000 especies se utilizan en este tipo de preparados. A nivel mundial se llega a importar el 55% de plantas medicinales. El principal país importador es Alemania seguido de Reino Unido y por último España. La demanda de plantas medicinales es muy alta para la producción de medicamentos. (CAÑIGERAL, 2002)

1.2. QUINUA

FIGURA N° 1: QUINUA



Fuente: FAO, 2013

Desde hace 5000 años la Quinoa (*Chenopodium quinoa wild*) ha sido utilizada para la alimentación humana, animal y por sus propiedades terapéuticas principalmente por culturas Andinas. (Muñoz, 2009), (Jacobsen & Sherwood, 2002). Este cultivo puede soportar varias condiciones climáticas desde el frío hasta climas calientes y secos, la humedad relativa apta es

de 44 % a 80% y puede soportar temperaturas de -4°C hasta 38°C haciéndolo un cultivo resistente y de gran importancia para la producción. (BIOVERSITY INTERNATIONAL, FAO, PROINPA, INIAF Y FIDA., 2013) Este cultivo se puede encontrar en zonas del Ecuador, Colombia, Perú, Bolivia, Argentina y Chile.(JACOBSEN, S., y SHERWOOD, S., 2002).

La quinua es un pseudocereal, se denomina así porque no pertenece a la familia de los cereales las “GRAMIDEAS”. Presenta un alto valor nutritivo por el contenido de proteína, aminoácidos esenciales, hierro, magnesio, calcio, fósforo, rico en fibra y no contiene gluten. (MUJICA, , 2009).Este presenta de 14 a 18% de valor proteico, que está dado por el balance de aminoácidos y aminoácidos esenciales, encontrando 16 de 24 aminoácidos existentes. Está formada de 50-60 % de almidón, el aceite de quinua está compuesto por ácido linoléico, linolénico, además de presentar tocoferoles que actúan en la prevención de la oxidación de los ácidos grasos. (VILLACRÉS, E., y PERALTA, E., EGAS, L. , 2011)

TABLA N° 1: COMPOSICIÓN AMINOCÍDICA (100 GR. DE PRODUCTO) DE LA QUINUA EN COMPARACIÓN CON EL TRIGO Y LA LECHE.

AMINOACIDOS	QUINOA	TRIGO	LECHE
Histidina *	4.6	1.7	1.7
Isoleucina *	7.0	3.3	4.8
Leucina *	7.3	5.8	7.3
Lisina *	8.4	2.2	5.6
Metionina *	2,1	2.1	2.1
Fenilalanina *	5.3	4.2	3.7
Treonina *	5.7	2.7	3.1
Triptofano *	0,9	1.0	1.0
Valina *	7.6	3.6	4.7
Acido Aspártico	8.6	--	--
Acido Glutámico	16.2	--	--
Cisteina	7.0	--	--
Serina	4.8	--	--
Tirosina	6.7	--	--
Argina *	7.4	3.6	2.8
Prolina	3.5	--	--
Alanina	4.7	3.7	3.3
Glicina	5.2	3.9	2.0
*Aminoácidos esenciales			

Fuente: Muñoz, 2009

Este grano se comercializa en diferentes formas: harina, pan, hojuelas, pastas, galletas y otros productos por su alto valor nutricional, es muy apreciado por los consumidores. (MUÑOZ, 2009)

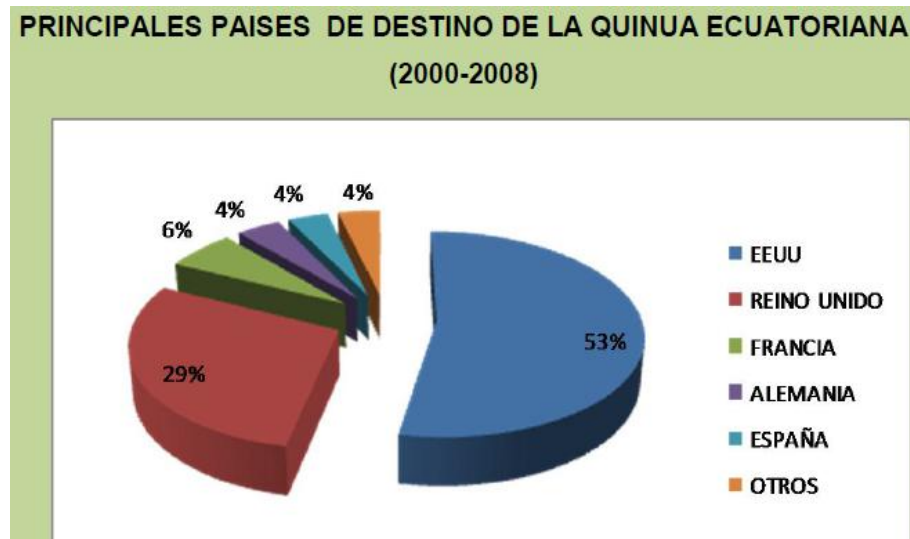
1.2.1. QUINUA EN EL ECUADOR

En el Ecuador, se cultiva la quinua en diferentes zonas: Carchi, Chimborazo, Imbabura, Pichincha, Bolívar, Azuay, Loja, Tungurahua y Cotopaxi. (JACOBSEN y SHERWOOD, 2002)

En el año 2000 se sembraron 900 hm² de quinua obteniendo 226 toneladas. En las provincias donde se localizó la producción son: Cotopaxi, Chimborazo, Pichincha, Azuay, Tungurahua e Imbabura. El rendimiento promedio fue de 0,4 t/ha. Dentro de la provincia de Chimborazo se destaca el cantón Colta obteniendo 134 toneladas. En el año 2009 la producción de quinua se ha incrementado en las provincias de: Chimborazo, Loja, Cañar, Cotopaxi, Pichincha, Carchi e Imbabura.(PERALTA, 2009)

Este pseudocereal a pesar de su alto valor nutricional, no presenta la atención necesaria, por lo cual no existe mucha información sobre el cultivo en el país que permita los conocimientos de aspectos importantes de la misma. Pero si es aprovechada por otros países por su alto contenido en proteínas. A nivel internacional, la Quinua es muy apetecida por varios países como: Estados Unidos, Francia, Reino Unido, Alemania y España. (PERALTA, 2009)

GRAFICO N° 1: PRINCIPALES PAÍSES DE DESTINO DE LA QUINUA ECUATORIANA



Fuente: Peralta, La quinua en el ecuador "Estado del Arte", 2009

1.2.2. TAXONOMÍA DE LA QUINUA

FIGURA N° 2: Quinua (*Chenopodium quinoa*)



(Gispert, 2009)

La quinua es una planta herbácea, pertenece a la familia Chenopodiaceae, es una fanerógama, corresponde al género *Chenopodium* y su especie es *Chenopodium quinoa Willd.* La variedad de quinua depende del contenido de proteínas, forma de las hojas y de las flores. (GISPERT,2009)

Reyno: Vegetal

División: Fenerógamas

Clase: Dicotiledoneas

Sub clase: Angiospermas

Orden: Centrospermales

Familia: Chenopodiáceas

Género: *Chenopodium*

Sección: *Chenopodia*

Subsección: *Cellulata*

Especie: *Chenopodium quinoa Willd.* (MUJICA, IZQUIERDO Y MARATHEE, 2009)

1.2.3. COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA DE LA QUINUA

En la quinua podemos encontrar diferentes metabolitos secundarios. Contiene flavonoides, aceites esenciales, taninos, antocianinas y saponinas. Las saponinas presentes en la quinua, le confieren un sabor amargo al grano, lo cual limita el consumo de esta. Además contiene vitamina C, vitamina E, carotenos, tiamina y rivo flavina. Por otro lado, presenta un alto contenido de minerales. (MUÑOZ, 2009)

TABLA N° 2: GRUPOS FITOQUÍMICOS PRESENTES EN GRANOS DE LA QUINUA.

GRUPOS FITOQUÍMICOS	VARIETADES DE QUINUA	Quinua Criolla Blanca	Quinua Tunkahuan
	Catequinas	++	++
	Azucres Reductores	++	++
	Lactonas y Coumarinas	++	++
	Antocianidinas	+++	+++
	Triterpenos y Esteroides	+++	+++
	Fenoles y Taninos	+	+
	Saponinas	++	++
	Aminoácidos	+++	+++
	Flavonoides	+++	+++
	Aceites y Grasas	+++	+++
	Quinonas	-	-
	Cardenólidos	-	-
Alcaloides	-	-	

Fuente: Guapi, 2013

Interpretación:

- Abundante: +++
- Moderado: ++
- Escaso: +
- Negativo: -

1.2.4. PRINCIPALES GRUPOS FITOQUÍMICOS PRESENTES EN LA QUINUA

1.2.4.1. Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos hidrosolubles. Se encuentran en las hojas y flores de la planta. Su origen biosintético es a partir de las chalconas. (BRUNETON, 1993). Estos son responsables de casi todos los pigmentos de las plantas. Los flavonoides actúan como defensa contra el ataque de microorganismos, rayos UV, insectos y otros animales herbívoros presentes en la planta. (MARCANO Y HASEGAWA, 2002)

Presentan varias propiedades medicinales entre esas tenemos: anticancerígeno, antiinflamatorio, cicatrizante, analgésico, antioxidante, cardiotónica, antitrombótica, antimicrobiana, fragilidad capilar, capacidad de disminuir el colesterol y antiulcerosa. (CIARLOTTI, 2013). Los flavonoides captan radicales en anoxia, inflamación y autooxidación lipídica. Esta capacidad depende de la afinidad por los radicales y sus estructuras. Además, favorecen la síntesis de colágeno protegiendo los vasos sanguíneos y así favorece al proceso de cicatrización. (CAÑIGERAL, 2003). Los flavonoides se pueden clasificar en: flavonas, flavonoles, flavononas, biflavonoides, chalconas y heterósidos flavonoícos. (BRUNETON, 1993)

Los flavonoides que se encuentran en la quinua son isoflavonas, compuestos que por su estructura son Fitoestrógenos, que presentan similar estructura con las hormonas humanas. El consumo en dosis altas en personas que no necesitan de estrógenos puede producir anomalías. Pero la quinua presenta un bajo contenido por lo cual garantiza la seguridad del consumo de la quinua. (VILLACRÉS, Y PERALTA, 2011)

TABLA N° 3: CONTENIDO DE FLAVONOIDES EN LOS GRANOS DE QUINUA.

VARIEDAD DE QUINUA	CONTENIDO DE FLAVONOIDES mg/ 100g (Muestra Seca)
Quinua Criolla Blanca	26,07
Quinua Tunkahuan	25,74

Fuente: Villacrés, Cuadrado, y Falconí, 2013

1.2.4.2. *Saponinas*

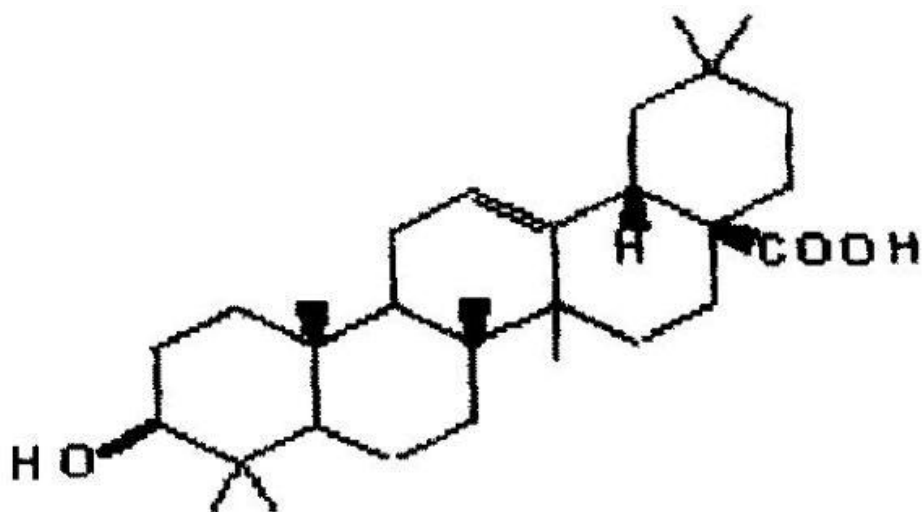
Las saponinas tienen propiedades tensoactivas, es decir, al ponerse en contacto con agua, la disolución se convierte espumosa. La industria aprovecha esta propiedad empleándola en detergentes y jabones. Estas actúan en la planta como sistema de defensa, reguladoras de crecimiento y antifúngicas. (ANAYA LANG, 2003). Existen dos tipos de saponinas:

- **Esteroides:** son neutras. Se encuentran principalmente en las monocotiledóneas. Estas pueden ser utilizadas para la elaboración de hormonas sexuales y corticoides. (ANAYA LANG, 2003).
- **Triterpénicas** son ácidas. Se encuentran principalmente en las dicotiledóneas. (ANAYA LANG, 2003).

Por su capacidad espumante las saponinas se utilizan en la elaboración de cerveza, en la industria farmacéutica la elaboración sintética de hormonas, en la industria cosmética en shampoos. (TAPIA, et al, 1979)

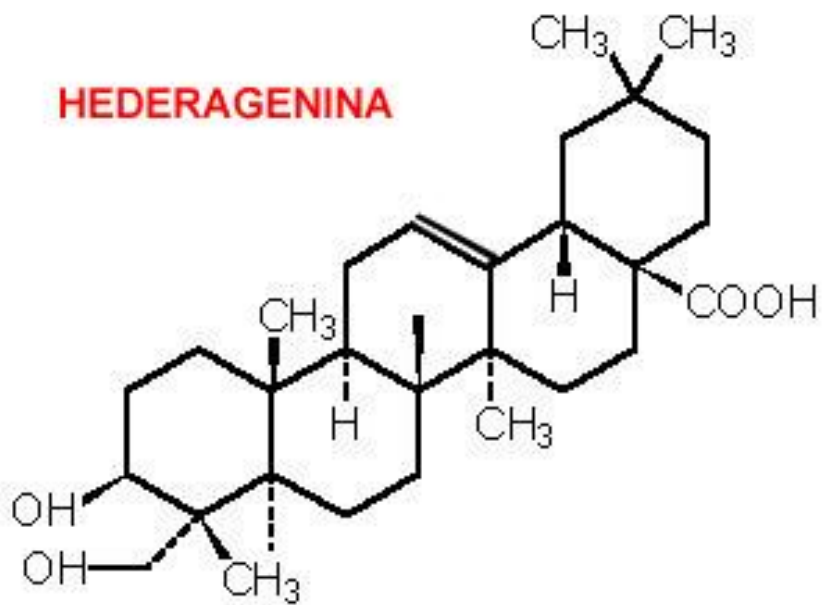
Las Saponinas presentes en la quinua son de tipo glicósidos Triterpénicas derivadas de ácido oleanólico, hederagenina y ácido fitolacagénico. Estas saponinas pueden tener diferentes propiedades farmacológicas como inhibición del crecimiento de hongos, actúa contra enfermedades virales, además de tener efecto hipoglucemiante y es un potenciador de la absorción del fármaco en la mucosa. También puede ser parte de otras composiciones farmacéuticas actuando como adyuvantes para mejorar respuestas inmunes. (MADL, 2006)

FIGURA N° 3: ACIDO OLEANÓLICO



Fuente: MADL, 2006

FIGURA N° 4: HEDERAGENINA



Fuente: MADL, 2006

De acuerdo al contenido de saponina la quinua puede ser dulce o amarga. Si sobrepasa 0,11% del contenido de saponinas la quinua es amarga y si es menor a este valor la quinua es dulce. (VILLACRÉS y PERALTA, 2011)

TABLA N° 4: CONTENIDO DE SAPONINAS EN GRANOS DE QUINUA EN ESTADO CRUDO (ENSAYO DE ESPUMA).

VARIEDAD DE QUINUA	% de Saponinas
Quinua Criolla Blanca	0,04
Quinua Tunkahuan	0,03

Fuente: Villacrés, Cuadrado, y Falconí, 2013

1.2.4.3. Aceites Grasos

Son una mezcla de esteres de glicerol y ácidos grasos, pueden ser de origen animal como vegetal. Presentan diferentes propiedades físicas, pueden encontrarse en semillas de tipo oleaginosas, son más livianos que el agua e insolubles en esta. Pueden almacenarse en distintas partes de la planta. (ORTUÑO, 2006). Estos aceites pueden intervenir en diferentes procesos de agregación plaquetaria e inflamación actuando como mediadores celulares (CAÑIGERAL, 2003).

La quinua es un grano rico en aceites grasos esenciales como el ácido linoléico y linolénico que constituye el 55-63% de la grasa total de la quinua.(VILLACRÉS Y PERALTA, 2011). Por lo tanto, con el contenido de saponinas, fibra se mantiene balanceada atribuyéndole la propiedad hipocolesterolemia. (MUÑOZ, 2009).

TABLA N° 5: PERFIL LIPÍDICO DE QUINUA: CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUAN (% FRESCO)

PERFIL LIPÍDICO		QUINUA TUNKAHUAN	QUINUA CRIOLLA BLANCA
AGS	Palmítico	10,28	11,33
	Estearico	0,77	0,76
AGM	Oléico	24,66	21,66
AGP	Linoléico	55,45	55,67
	Linolénico	3,25	4,17

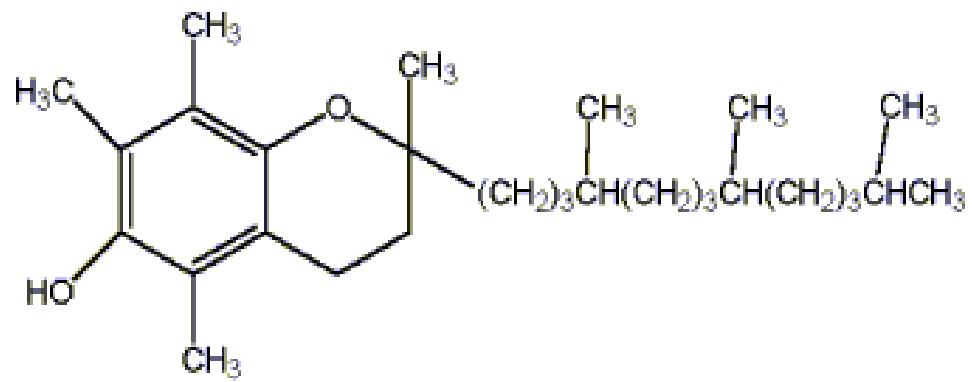
Fuente: Pastor, G., et al, 2013

TABLA N° 6: CONTENIDO DE TOCOFELORES DE LA QUINUA: CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUAN (% FRESCO)

Tocoferoles (%)	Quinoa Criolla Blanca	Quinoa Tunkahuan
Tocoferol γ	274,85	802,25
Tocoferol α	182,70	773,80
Tocoferol δ	-----	-----

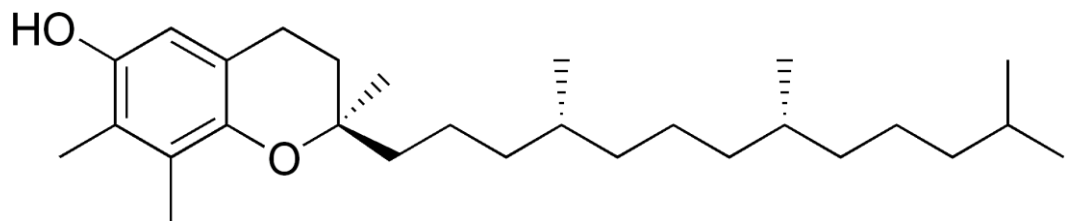
Fuente: Pastor, et al, 2013

FIGURA N° 5: TOCOFEROL α



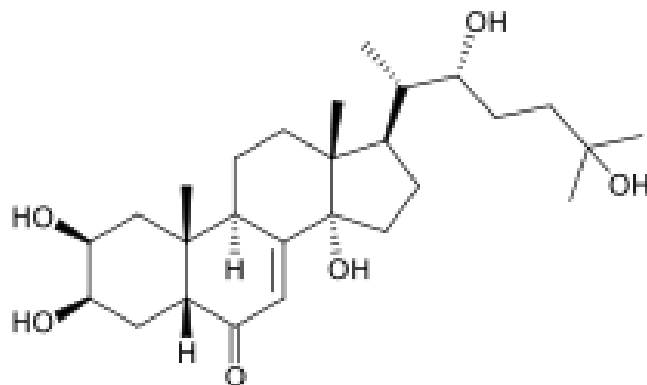
Fuente: Pastor, et al, 2013

FIGURA N° 6: Tocoferol γ



1.2.4.4. *Fitectedsteroides*

FIGURA N°7: ECDISONA



Fuente: MADL, 2006

Son esteroides polihidroxiados, compuestos que actúan en la defensa de la planta y también presentan propiedades terapéuticas como anti- osteoporótico, ayudan en el proceso de curación de heridas. Además son considerados como compuestos bioactivos, ya que ayudan a reducir el estrés. El principal fitecdisteroide ecdiesterona este puede ayudar al tratamiento y la prevención de la diabetes, disminuyendo significativamente los niveles de glucosa en la sangre. (GRAF, B., 2014)

1.2.5. USOS MEDICINALES

La quinua ha sido utilizada en la antigüedad no solo para la alimentación, también por sus propiedades terapéuticas. Entre sus propiedades tenemos: analgésica, cicatrizante, antiinflamatorio, antiblenorrágico y diurético.

Sus usos más frecuentes son: para tratar cólicos, afecciones hepáticas, anginas, abscesos, hemorragias, luxaciones, infecciones de las vías urinarias y como laxante. (MUÑOZ, 2009)

1.2.6. VARIETADES DE LA QUINUA

Las variedades que proporciona el Instituto Nacional de Investigación Agropecuarias, son parte del programa de fitomejoramiento de semilla de diferentes especies vegetales. (INIAP, 2011)

1.2.6.1. Variedad Tunkahuan

Esta es una variedad de bajo contenido de saponinas, con un sabor dulce. Está vigente desde 1992, fue obtenida del germoplasma recolectado en la provincia de Carchi, y ahora es una variedad de quinua mejorada. Han sido adquiridas por varias comunidades y programas para fomentar el uso de este grano por su valor nutritivo alto. (PERALTA, 2010)

FIGURA N° 8: Composición Nutricional Variedad Quinua Tunkahuan.

Composición Nutricional variedad INIAP Tunkahuan

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL ^a		CONTENIDO DE AMINOACIDOS ¹		CONTENIDO DE ACIDOS GRASOS ²	
		mg/g muestra		%	
Energía (Kcal/100 g)	453,08	Ácido aspártico	11,8	Cáprico C10:0	--
Humedad (%)	13,7	Serina	5,8	Láurico C12:0	--
Proteína (%)	13,9	Ácido glutámico	21,4	Mirístico C14:0	Trazas
Grasa (%)	4,95	Prolina	4,6	Palmitico C16:0	11,49
Carbohidratos (%)	66,73	Treonina*	5,1	Estéarico C18:0	Trazas
Cenizas (%)	3,70	Glicina	18,2	Oleico C18:0	27,01
Fibra (%)	8,61	Alanina	6,5	Linoleico C18:2	56,8
Calcio (%)	0,18	Valina*	6,4	Linolénico C18:3	4,7
Fósforo (%)	0,59	Metionina*	1,5		
Magnesio (%)	0,16	Isoleucina*	5,2		
Potasio (%)	0,95	Leucina*	8,6		
Sodio (%)	0,02	Fenilalanina*	5,7		
Cobre (ppm)	10,0	Lisina*	7,4		
		Arginina	8,0		
		Tirosina	4,4		
		Histidina	3,9		
		Cisteína	1,5		

Fuente: Peralta, La Quinua en el Ecuador "Estado del Arte", 2009

1.2.6.2. Variedad Criolla Blanca

Esta es una variedad con un sabor dulce. Es propia de los altiplanos del Ecuador. Presenta un alto contenido de saponinas. (NIETO, PERALTA Y CASTILLO, 1986)

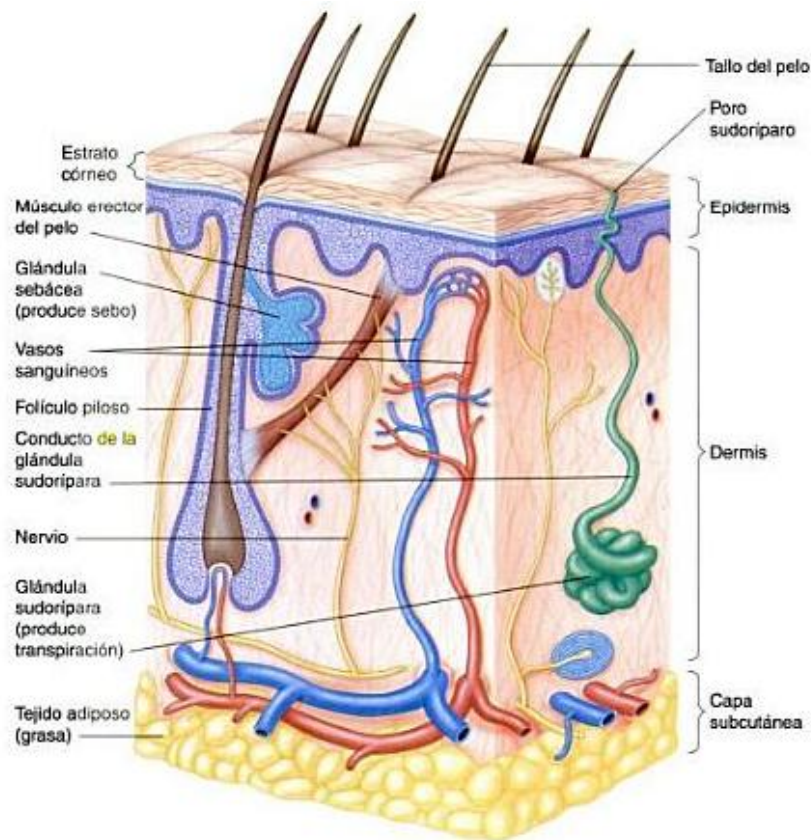
1.3. PIEL

La piel es una barrera que protege al cuerpo del ambiente externo y lo comunica con este. Es el órgano más extenso del cuerpo humano y cumple diferentes funciones como: brinda protección contra microorganismos patógenos, regula la temperatura corporal, reparación de heridas y regeneración de la misma.(WOLF, G., 2009)

1.3.1. CAPAS DE LA PIEL

La piel está formada por 3 capas.

FIGURA N° 9: Estructura de la Piel



Fuente: Trott, 2007

1.3.1.1. Epidermis

La epidermis es la capa superficial de la piel. Su principal función es proteger y ser una barrera impermeable. Es avascular y se nutre por medio de la dermis (WOLF, G., 2009). Está formado por células denominadas queratinocitos y melanocitos que producen melanina; Pigmento responsable del color de la piel. (RASSNER, 1999). Está dividida en cuatro capas de células:

- Capa Basal: Está constituida por una capa de queratinocitos en proceso mitótico, estos se multiplican y pasan a la capa espinosa donde se van a diferenciar y madurar. (COLE,HELLE y et al., 2011)
- Capa Espinosa: En esta capa los queratinocitos producen queratina. Los melanocitos van a sintetizar melanina a partir de cisteína y tirosina. Esta melanina va ser transferida a los queratinocitos presentando pigmentación en la piel. (COLE,HELLE y et al., 2011)
- Capa Granulosa: Se encuentra una sustancia denominada queratohialina, es una proteína rica en histidina la cual ayuda a regular la susceptibilidad de la dermatitis atópica.(WILSON Y MOORE, 1990)
- Capa Cornea: Las células en esta etapa no presentan núcleo, esta capa protege a la piel siendo una barrera contra el paso de sustancia y pérdida de agua. (FERRANDI, 2001)

FIGURA N° 10: Capas de la epidermis



Fuente: Rassner, 1999

Factores de Crecimiento y citocinas epidérmicas

Estos factores de crecimiento son importantes para que las células de la piel proliferen y su proceso de regeneración sea mejor. Existen tres factores de crecimiento que estimula la producción de células basales, importantes en el proceso de regeneración celular. (Falabella, Raphaela, Chaparro, Barona, & Luciano, 2002). Los factores son:

- Factor de Crecimiento Transformante alfa
- Factor de Crecimiento epidérmico
- Factor de Crecimiento queratinocitos. (FALABELLA, et al.,2002)

1.3.1.2. *Dermis*

La dermis está formada por tejido fibroso y contiene los anexos cutáneos. (WOLF, G., 2009) Los fibroblastos producen colágeno que brindan textura y rigidez a la piel (RASSNER, 1999). El colágeno constituye el 70% de la dermis. (COLE, HELLE y et al., 2001). Presenta receptores de estímulos que llevan señales de la piel hacia el sistema nervioso. La dermis y la epidermis actúan juntas en el proceso de reparación de la piel. (WOLF, G., 2009) Además, contiene linfocitos, macrófagos y mastocitos. Estas células se encuentran activas en el proceso de cicatrización. (TROTT, 2007). El sistema de irrigación sanguínea proporciona flujo sanguíneo a las estructuras superficiales, es decir, a la epidermis y sus capas. (COLE, HELLE y et al., 2001).

1.3.1.3. *Hipodermis*

Está formada por tejido adiposo. Mantiene la temperatura corporal del organismo. Sirve como reservorio de muchas sustancias de origen endógeno, como de xenobióticos. Además, de amortiguar los golpes bajo la piel. (WOLF, G., 2009). El espesor de este varía según el área anatómica, individuo y la raza. Contiene material de alta energía que se emplea para mantener la temperatura. (FALABELLA, et al., 2002)

1.4. HERIDAS

Es una lesión en la piel producida con objetos cortopunzante, mordeduras o patológicas.(LEONG Y PHILLIPS, 2013)

1.4.1. CLASIFICACIÓN DE LAS HERIDAS

Heridas incisas: son heridas producidas con algún objeto con punta, no son profundas. Su principal signo es el sangrado y la inflamación, suelen ser heridas superficiales. (INSTITUTO CATALÁN DE LA SALUD, 2005)

Heridas punzantes: son heridas producidas con objetos puntiagudos, se pueden volver graves de acuerdo a la profundidad. Pueden causar hemorragia interna. (GARCÍA, et al., 2006)

Heridas Abrasivas: Estas heridas se producen cuando existe fricción con algún objeto con la piel. (GARCÍA, et al., 2006)

Heridas Contusas: Son heridas superficiales y profundas, producidas por alguna fuerza o bordes irregulares. (INSTITUTO CATALÁN DE LA SALUD, 2005)

Arma de Fuego: Son heridas que causan mayor daño, pueden contaminarse fácilmente. Existe una destrucción del tejido. (INSTITUTO CATALÁN DE LA SALUD, 2005)

Mordedura: Puede ser humana o animal. Produce una desgarre de la piel. Causando mucho dolor. (INSTITUTO CATALÁN DE LA SALUD, 2005)

1.5. CICATRIZACIÓN

Es un proceso en el cual se regenera la piel, frente a una lesión provocada por cualquier tipo de mecanismo.(TROTT,2007). Comienza el proceso de cicatrización normal de la herida cuando son agudas mientras, que las heridas crónicas no cicatrizan bien, debido a que existe infección, tejido muerto o algún tipo de patología. (LEONG Y PHILLIPS, 2013)

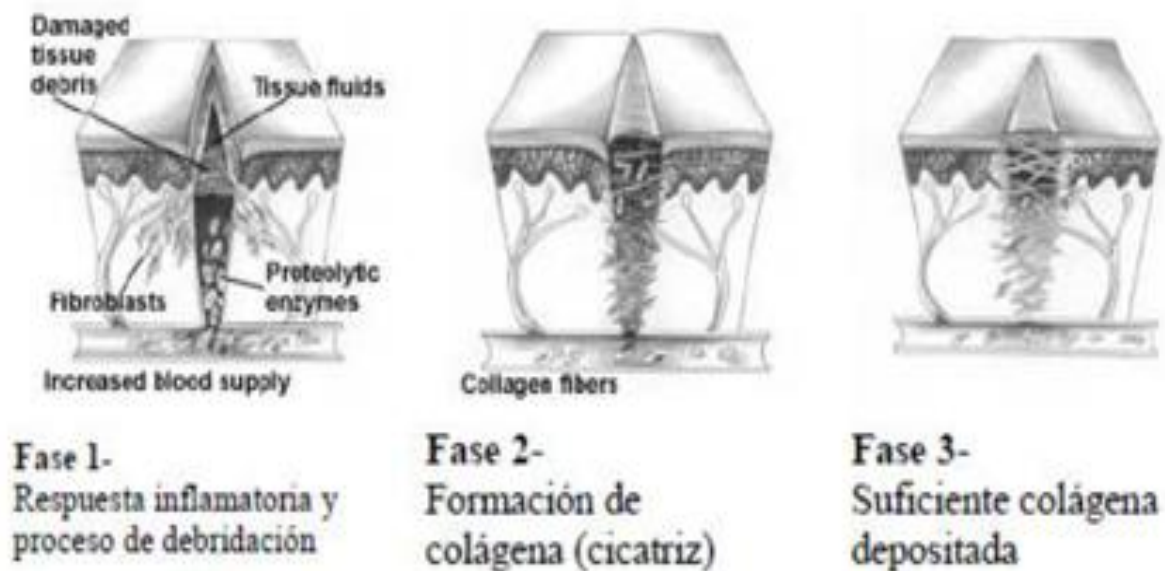
1.5.1. FASES DE LA CICATRIZACIÓN

- **Respuesta inmediata a la lesión - hemostasia:** La primera fase tiene lugar a una hemostasia rápida. Los vasos sanguíneos se contraen durante 10 minutos. (Trott, 2007). Las plaquetas y glóbulos rojos comienzan a agruparse en los capilares dañados y en la superficie de la herida deteniendo la hemorragia. Provocando una activación de la cascada de coagulación y en pocos minutos se forma el coágulo en la herida. (LEONG Y PHILLIPS, 2013).

- **Fase inflamatoria:** Después de la formación del coágulo hemostático comienza la respuesta inflamatoria. Se activa y se libera sustancias químicas que atraen granulocitos y linfocitos hacia la herida. La función que cumple los granulocitos y linfocitos es evitar la proliferación de bacterias y eliminación de infecciones.(TROTT, 2007). Los macrófagos van activar células mediadoras como citocinas y factores de crecimiento, regulando la proliferación celular. Los linfocitos son importantes en el proceso de cicatrización, es un puente entre la fase inflamatoria y la proliferativa. Pero todavía no se ha definido su función principal. (BARBUL Y EFRON, 2011). Las células inflamatorias comienzan con la formación del fibroblasto y colágeno. (TROTT, 2007)
- **Epitelización:** Las células epiteliales forman una barrera para impedir la salida de líquidos e infecciones. La capa basal de la epidermis empieza a transformarse. Los queratinocitos pasan por diferentes fases: desprendimiento, migración, diferenciación y estratificación. (LEONG Y PHILLIPS, 2013). A las 12 horas transcurridas durante la herida, las células empiezan a formar estructuras para facilitar su movilización. Provocando una activación de la división celular y así comienza a desplazarse las células hacia la herida. Poco a poco, las células van recuperando su forma cúbica inicial.(TROTT, 2007).
- **Neovascularización:** Es importante la formación de vasos nuevos para la cicatrización de la herida. Estos vasos sustituyen los vasos dañados y llevan oxígeno hacia la herida.(TROTT, 2007).
- **Síntesis de colágeno:** Después de que el tejido ha sido nutrido y estimulado por los macrófagos, los fibroblastos entran mitosis y empiezan a producir fibrillas de colágeno. Por medio de la colagenasa se reemplaza el colágeno dañado por el colágeno nuevo (TROTT, 2007). La síntesis de colágeno está controlada por citocinas y factores de crecimiento. (BARBUL Y EFRON, 2011)

- **Maduración y remodelación de la herida:** Este se inicia en la fase fibroblástica y en la síntesis de colágeno. La remodelación continúa hasta lograr tener una cicatriz madura y avascular. (BARBUL Y EFRON, 2011)

FIGURA N° 11: Fases de la Cicatrización



Fuente: Leong y Phillips, 2013

1.5.2. TIPOS DE CICATRIZACIÓN DE LA HERIDA

Se clasifica según el tipo de cierre de la herida, el tiempo transcurrido desde la lesión y la desvitalización del tejido.

- **Cierre Primario:** también denominado primera intención. Se presenta cuando el corte es mínimo, contaminación escasa y poca desvitalización del tejido. La reparación del tejido ocurre entre 6 – 8 horas. El riesgo de infección en manos y pie es más rápido aumenta después de 4 a 6 horas.(TROTT,2007)

- **Cierre secundario:** También denominado segunda intención. Las úlceras cutáneas, mordeduras por animales o punciones, se cicatrizan de mejor manera por segunda intención. (TROTT,2007)
- **Cierre Terciario:** Se demora más en cicatrizar debido a la contaminación existente por varios factores. Los cuales hacen más lento el proceso de cicatrización. (TROTT,2007)

1.5.3. TRATAMIENTOS MEDICAMENTOSOS TÓPICOS

Es la aplicación de un gel, crema, ungüentos en la parte externa de la piel. Resulta la aplicación directa en las lesiones externas. (RASSNER, 1999). La efectividad de los medicamentos depende de: propiedades farmacológicas, excipiente, la proporción y la forma farmacéutica.(AHUMADA J., et al., 2002). Son medicamentos que con ayuda de sus excipientes puede atravesar el principio activo la piel hasta llegar a su sitio de acción. (RASSNER, 1999)

1.5.3.1. Ventajas y desventajas del uso de medicamentos tópicos

Ventajas:

- Fácil aplicación
- Los principios activos no se pueden poner en contacto directo con la piel, con ayuda de sus excipientes, logra atravesar la piel.
- El metabolismo del principio activo es en la piel, y muy pocos pueden atravesar efectos sistémicos.

- Algunas capas de la piel pueden servir de almacenamiento del principio activo, e irse liberando poco a poco. (RASSNER, 1999)

Desventajas:

- Para el paciente es complicado, porque la aplicación genera mancha, olor desagradable.
- Los medicamentos pueden activar el sistema inmune, provocando alergia. (RASSNER, 1999)

1.5.3.2. Principios Activos

Corticoides Tópicos: Son antiinflamatorios de amplio espectro, antiproliferativos. Presenta efectos no deseados como: acné, estrías, atrofia cutánea. No puede ser aplicado en piel sensible. (RASSNER, 1999)

Antiinflamatorios no esteroideos: El tratamiento es a largo plazo, pero no presenta efectos secundarios muy fuertes como los corticoides. Presentan inconvenientes por su olor, presencia de color. (RASSNER, 1999). Se puede nombrar como reacciones adversas prurito e irritación. (AHUMADA J., et al, 2002)

Antisépticos: Estas sustancias tratan de evitar la proliferación de microorganismos para que la herida se cure de manera normal y no exista retrasamiento del proceso. (RASSNER, 1999)

Antibióticos Tópicos: Presenta importante acción antiséptica. Pero se puede desarrollar resistencia a los antibióticos y sensibilización de la piel. Entre los más comunes tenemos: ácido fusídico, gentamicina, tetraciclina, clindamicina. (RASSNER, 1999 Cuando existe una

efracción de la piel, los antibióticos pueden ser absorbidos a la sangre, provocando una alta toxicidad. (AHUMADA J., et al, 2002)

1.5.4. TROLAMINA

Es una emulsión de tratamiento tópico de uso cicatrizante. Cada 100 g de emulsión contiene 0.67 g de Trolamina.

- **Usos:** Eritemas secundarios a tratamientos de radioterapia, quemaduras superficiales de primer y segundo grado, eritema solar, y toda otra herida cutánea no infectada.
- **Contraindicaciones:** No utilizar en personas con hipersensibilidad algún componente de la emulsión, en eritemas o dermatitis.
- **Efectos Adversos:** Este producto produce hiperemia (estimulación de la microcirculación), generalmente hasta 15 a 30 minutos después de la aplicación, que puede generar una manifestación dolorosa que habitualmente es moderada y transitoria (15 a 30 minutos).
- **Modo de empleo:** Heridas, abrasiones y zonas de injerto dérmico: Lavar la zona afectada con suero fisiológico, aplicar Biafine emulsión sobre y alrededor de la herida.

CAPITULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se desarrolló en:

- Laboratorios y Bioterio de la Universidad Nacional de Chimborazo “UNACH”
- Laboratorios de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo “ESPOCH” Facultad de Ciencias – Escuela de Bioquímica y Farmacia
- Laboratorio de Control de Calidad de la Industria Farmacéutica NEOFARM
- Departamento de Patología del Hospital "Dr. Fausto Andrade Yáñez"- SOLCA

2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. MATERIALES

2.2.1.1. Material vegetal

Las variedades de quinua con las que se trabajó son: Quinua variedad Criolla Blanca y la Quinua Tunkahuan. Todas han sido proporcionadas por el Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria (INIAP). Las muestras fueron recolectadas en la estación experimental “Santa Catalina”. Ubicada en la provincia Pichincha, Cantón Mejía, Panamericana Sur Km. 1, Sector Cutuglagua.

Se eligieron Quinua Criolla Blanca y Quinua Tunkahuan por su alto contenido de flavonoides y aceites grasos comprobados en bibliografía.

2.2.1.2. Material Biológico

Para esta investigación se utilizó 36 ratones de género *Mus musculus*, Cepa B ALB/C. Estos animales son genéticamente estandarizados, aptos para destinarlos a la investigación y

desarrollo de causas, diagnóstico y tratamiento de enfermedades que afectan a los seres humanos, así mismo para la producción y control de medicamentos o productos alimenticios.

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

2.2.1.3. *Material de Laboratorio*

Equipos

- Balanza METTLER TOLEDO ME 204
- Estufa MEMMERT SNB 100
- Molino EBC – Tamiz 1mm
- Rotavapor YAMATO Water Bath BM 500
- Bomba de vacío GAST DOA-P704-AA
- Potenciómetro Metter Toledo
- Medidor de extensibilidad
- Autoclave Tultrauer 2540 EK
- Cabina de Flujo Laminar Biobase DX A201805
- Procesador de Tejidos MICROM STP 120
- Dispensador de Parafina
- Micrótopo MICROCOSMOS SHANDON FINESSE
- Baño Flotante

Reactivos

- Hexano
- Éter Etílico

- Dimetilsulfóxido
- Agua destilada
- Alcohol amílico
- Alcohol potable
- Tricloruro férrico al 5%
- Suero Fisiológico
- Ácido clorhídrico concentrado
- Cinta de magnesio metálico
- Acetato
- Ácido sulfúrico
- Cloroformo
- Aceite de Ricino Parcialmente Hidrogenado
- Tween 80
- Carbopol
- Trietanolamina
- Glicerina
- Dimeticona
- Parabenos: Metil y Propil
- Placas Petrifilm: Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales, Levaduras y hongos
- Xileno
- Hematoxilina
- Eosina
- Parafina
- Agua amoniacal

2.3. MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.3.1. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

2.3.1.1. Obtención de los extractos etanólicos

Los extractos son utilizados para obtener los principios activos de la planta. Se emplea disolventes alcohol etílico, aceites y agua.

La maceración consiste en la extracción de los principios activos de una planta o parte de ella a temperatura ambiente, utilizando el agua como disolvente el agua u otros disolventes. Este método consiste en colocar la planta o parte de ella triturada y colocar en remojo con el disolvente. (PAMPLONA ROGER, 2006)

Técnica de maceración

1. Moler los granos de quinua hasta obtener harina, pesar 200 g de harina previamente seca y desengrasada.
2. Colocar 500 mL e alcohol potable 90%, en un recipiente ámbar para evitar el paso de luz. Este procedimiento se debe realizar a temperatura ambiente.
3. Macerar durante 4 días y dejar reposar en un lugar fresco. Agitar de vez en cuando.
4. Filtrar con papel filtro N° MN615 Ø 125 mm.
5. El filtrado obtenido se concentrara con ayuda de un Rotavapor a 75°C.

2.3.1.2. Obtención de los extractos lipídicos

Se utilizará el método de Soxhlet-OfficialMethods of Analysis A.O.A.C. 15th Edition, U.S.A.(1990), para determinar el contenido de grasa cruda de cada variedad de quinua.

1. Utilizar quinua molida y colocar en los dedales previamente hechos con papel filtro. Y se pesa para luego obtener el rendimiento.
2. Para sellar el dedal colocar algodón presionando, para así, evitar la salida de la muestra.
3. Colocar el dedal en un envase de vidrio con 250 mL de Hexano y macerar durante 6 días. Antes de la extracción en el equipo de soxhlet.
4. El balón de extracción debe estar previamente seco y tarado, es decir con un peso constante para luego obtener el rendimiento.
5. Colocar el balón de extracción en el equipo soxhlet, el dedal se colocará en el tubo de extracción y proceder adicionar el hexano de la muestra previamente macerada al balón.
6. Colocar en calor el equipo ya armado, y extraer la muestra con el solvente durante 1 a 2 horas.
7. Después del tiempo estimado proceder a eliminar el hexano mediante el uso del Rotavapor. Hasta que se pierda el olor a hexano.
8. Después colocar el balón con la grasa en la estufa a 103°C durante 10 min, dejar enfriar en un desecador y pesar.
9. Para calcular la grasa total se aplicará la siguiente formula:

$$\% \text{ grasa cruda} = \frac{\text{Peso del balón con grasa} - \text{peso del balón tarado}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

2.3.1.3. *Obtención de saponinas*

1. Colocar la muestra seca y desengrasada en maceración, con etanol 70% durante 48 horas.
2. Filtrar y macerar nuevamente durante 24 horas.
3. El filtrado se concentra en Rotavapor
4. Al concentrado se le adiciona 40 mL de agua y proceder lavar con n-butanol

5. Se procede a concentrar el extracto con ayuda de un Rotavapor.(GARCÍA Y CASTELLANOS)

2.3.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE QUINUA (*Chenopodium quinoa willd*)

El análisis fitoquímico permite identificar cualitativamente la presencia de metabolitos secundarios en una planta, mediante la utilización de pruebas de coloración.

✓ Determinación cualitativa de azúcares reductores – Ensayo de Fehling

Tomar una alícuota del extracto, si el extracto no se encuentra en Agua se deberá evaporar el solvente y el residuo redisolverlo con 1 – 2 mL de agua. Colocar 2 mL de Reactivo de Fehling A-B y se calienta a baño maría durante 5-10 minutos, si hay presencia de color rojo o precipitado el ensayo se considera positivo.(LOCK DE UGAZ, 1994)

✓ Determinación cualitativa de Flavonoides - Ensayo de Shinoda

Tomar una pequeña cantidad de extracto aproximadamente 2 mL y colocar en un tubo de ensayo. Después añadir magnesio seguido de HCl concentrado. La presencia de color indica Flavonoides de: color amarillo a rojo pertenece a flavonas y flavonoles, color rojo a magenta pertenece flavonoles, color rojo, magenta, violeta o azul pertenece a flavononas, color amarillo isoflavonas, isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración. (LOCK DE UGAZ, 1994)

✓ Determinación cualitativa de Triterpenos y/o esteroides – Flavonoides - Ensayo de Liberman- Buchard

Tomar 2 mL del extracto en un tubo de ensayo y añadir 1 mL de cloroformo. Luego añadir 1 mL de anhídrido acético y agitar. Dejar caer por las paredes de tubo 2-3 gotas de H₂SO₄ concentrado sin agitar. Si presenta coloración es positivo. Si la reacción es rápida, presentara

un color rosado –azul. Si la reacción fue visible pero rápida presenta color verde intenso. (LOCK DE UGAZ, 1994)

✓ **Determinación cualitativa de taninos- Reacción con solución acuosa o etanólica de FeCl_3**

Tomar 2 mL del extracto y añadir 3 gotas de solución de tricloruro férrico al 5%. La prueba es positiva si presenta coloración rojo – vino para compuestos fenólicos, para taninos de tipo pirocateólicos coloración verde intensa. (LOCK DE UGAZ, 1994)

✓ **Determinación cualitativa de Aminoácidos libres – Ensayo de ninhidrina**

Tomar una alícuota de extracto alcohólico y se concentra en baño maría. Se añade 2 mL de solución al 2% de ninhidrina. Se procede a calentar durante 5-10 todo esto se lleva a cabo en baño maría. Se considera positiva la prueba cuando existe un cambio de color azul violáceo. (MARTÍNEZ, 1986)

✓ **Determinación cualitativa de Quinonas– Ensayo de Borntrager**

Tomar un alícuota de del extracto y evaporar el solvente a baño maría, el residuo se disuelve con 1mL de cloroformo, se adiciona 1mL de Hidróxido de Sodio y se agita hasta mezclar bien. Se espera hasta que se separa en 2 fases. Se considera positiva la prueba si la fase superior se colorea rosado – rojo. (MARTÍNEZ, 1986)

✓ **Determinación cualitativa de Antocianidinas**

Se toma una alícuota del extracto y se adiciona 1 mL de ácido clorhídrico y se calienta en baño maría durante 10 minutos. Se deja enfriar y se añade 1mL de agua, 1mL de alcohol amílico. Se agita y se deja reposar hasta que se separen dos fases. Se considera positiva la prueba si la fase superior se colorea marrón. (MARTÍNEZ, 1986)

✓ **Determinación cualitativa de Alcaloides – Ensayo de Dragendorff**

Identifica la presencia de alcaloides. Tomar una alícuota y se evapora el solvente. Se re disuelve con 1 mL de HCl conc. Se añade 3 gotas del reactivo de dragendorff. Si existe opalescencia de considera positiva la prueba. (MARTÍNEZ, 1986)

2.3.3. BIOENSAYO DE TOXICIDAD EN *Artemia salina*

Este es un método que permite determinar citotoxicidad en la larva de este crustáceo que es altamente sensible a una gran variedad de sustancias químicas.

Día 1

1. Preparar agua de mar 3,8 g de sal en 100 mL de agua destilada. Disolver y filtrar.
2. Preparar como alimento levadura, disolver 0,6 g de levadura en 1L de agua destilada.
3. En un erlemeyer con 350 mL de agua de mar, colocar 50 mg de huevos de *Artemia salina*. Colocar con luz artificial y bomba de oxígeno a burbujeo lento.

Día 2

4. Transferir la mayor cantidad de nauplios vivos en un erlemeyer con agua de mar fresca.
5. Pesar 20 mg en tubos de cada extracto analizar.

Día 3

6. Disolver los 20 mg de muestra en 2 mL de solvente.
Extracto Etanólico y Etéreo: 20 mg + 2mL de agua destilada
Extracto Lipídico: 20 mg muestra + 1,5 mL agua destilada + 0,5 mL DMSO.
7. A partir de esta solución preparar diluciones de 1000, 100,10 ppm para cada extracto. Transfiriendo a cada vial 500, 50 y 5 μ L respectivamente.

8. Realizar un control con agua destilada y otro con 50 µL de DMSO
9. A cada vial agregar 10 nauplios vivos y la dilución del extracto. Luego agregar agua de mar hasta completar 5 mL. Además agregar levadura como alimento.

Día 4

10. Después de 24 horas contar el número de sobrevivientes en cada dilución
11. Analizar los datos obtenidos. (CYTED- Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, 1995)

2.3.4. DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL 50 (DL 50)

2.3.4.1. Determinación de toxicidad aguda de la DL 50 para extractos etanólicos y saponinas

La toxicidad aguda cuantifica los efectos adversos que ocurren dentro de un breve lapso de la administración de una dosis única o múltiple.

1. Separar 13 ratones con 3 días antes de la determinación para que se ambienten.
2. Pesar los ratones, deben comprender un peso de 20-40 g, de 60 a 90 días de edad.
3. Ubicar a los ratones de acuerdo al peso más alto al bajo, para luego realizar los grupos y estos sean uniformes. Los grupos son 4 en dosis: 5000, 2500, 1250, 625 mg/Kg, cada grupo estará conformado por 3 ratones respectivamente, tomando en cuenta a un ratón para el blanco.
4. Calcular los mL administrar de acuerdo al peso y a la dosis.

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

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

5. 12 horas antes de la administración deberá ser retirado el alimento y solo mantener el agua.
6. Día de la administración: Retirar el agua y el aserrín quedando solo el ratón en la caja. Preparar la solución administrar con suero fisiológico. La administración será por vía oral mediante una cánula adaptada a una jeringuilla. La cánula deberá estar previamente lubricada con vaselina y la solución administrar.
7. A la hora de administración proporcionar comida y evaluar según las pautas de observación durante 7 días. Luego realizar la disección, al igual que se debe controlar el peso.
8. La pauta de observación debe ser única para cada ratón, debe estar llena con los datos correspondientes: Peso, Extracto analizado, fecha de análisis, dosis, mL administrados, mL teóricos, hora de administración y nombre del analista.
9. Los parámetros a evaluar en la ficha de observación son: disminución o aumento de la actividad motora, ataxia, pérdida de reflejo de enderezamiento, mucosas pálidas o cianóticas, erección de la cola, erección del pilo, diarrea, pasivo o agresivo, actividad prensil, reflejo corneal, equilibrio, test de Chimenea (neuromuscular), micción y mortalidad.

2.3.4.2. *Determinación de toxicidad aguda de la DL50 para extractos lipídicos*

1. Separar 13 ratones con 3 días antes de la determinación para que se ambienten.
2. Pesar los ratones, deben comprender un peso de 20-40 g, de 60 a 90 días de edad.
3. Ubicar a los ratones de acuerdo al peso más alto al bajo, para luego realizar los grupos y estos sean uniformes. Los grupos son 4 en dosis: 8, 16, 32,64 mL/Kg, cada grupo estará conformado por 3 ratones respectivamente, tomando en cuenta a un ratón para el blanco.
4. Calcular los mL administrar de acuerdo al peso, dosis y densidad del aceite

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

$g \text{ del extracto} = \text{densidad} * \text{mL administraci3n}$

$$\text{Dosis real administrada} = \frac{\text{mg del extracto}}{\text{peso del rat3n}}$$

5. 12 horas antes de la administraci3n deber3 ser retirado el alimento y solo mantener el agua.
6. D3a de la administraci3n: Retirar el agua y el aserr3n quedando solo el rat3n en la caja.
Preparar el aceite administrar. La administraci3n ser3 por v3a oral mediante una c3nula adaptada a una jeringuilla. La c3nula deber3 estar previamente lubricada con vaselina y la soluci3n administrar.
7. A la hora de administraci3n proporcionar comida y evaluar seg3n las pautas de observaci3n durante 7 d3as. Luego realizar la disecci3n, al igual que se debe controlar el peso.
8. La pauta de observaci3n debe ser 3nica para cada rat3n, debe estar llena con los datos correspondientes: Peso, Extracto analizado, fecha de an3lisis, dosis, mL administrados, mL te3ricos, hora de administraci3n y nombre del analista.
9. Los par3metros a evaluar en la ficha de observaci3n son: disminuci3n o aumento de la actividad motora, ataxia, perdida de reflejo de enderezamiento, mucosas p3lidas o cian3ticas, erecci3n de la cola, erecci3n del pilo, diarrea, pasivo o agresivo, actividad prensil, reflejo corneal, equilibrio, test de Chimenea (neuromuscular), micci3n y mortalidad.

2.3.5. ENSAYO DE IRRITABILIDAD

Este ensayo se realizar3 con el fin de evaluar las reacciones que produce el extracto puro sobre la piel de los ratones.

1. Utilizar dos ratones elegidos de forma aleatoria.

2. Depilar el lomo de los ratones y se deja reposar de 24 a 48 h, limpiar el área depilada con suero fisiológico antes de aplicar el extracto.
3. Aplicar el extracto sin hacer ningún tipo de disolución, de forma directa de la parte depilada con la ayuda de un hisopo.
4. A las 6h después de la primera aplicación, aplicar por segunda vez.
5. A las 24 h evaluar si existe presencia de enrojecimiento y erupción cutánea.

2.3.6. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES

El control de calidad de los excipientes es un parámetro importante a evaluar, debido a que los excipientes deben presentar las condiciones adecuadas y permisibles para la elaboración del gel.

2.3.6.1. Agua purificada

Se evaluará según las especificaciones de la USP 35 Farmacopea de los estados unidos mexicanos 5ta ed. Evaluando los siguientes parámetros.

- **Descripción:** Líquido transparente, incoloro e inodoro
- **pH:** 5,0-7,5
- **Conductividad :** No menor a 0,13 $\mu\text{S}/\text{cm}$
- **Cloruros:** A 100 mL de la muestra, añadir 5 gotas de ácido nítrico y 1 mL de nitrato de plata. No debe aparecer opalescencia en la solución luego de transcurrir 15 minutos.
- **Sulfatos:** A 100 mL de muestra añadir 1 mL de SR de Cloruro de bario. No debe presentar turbidez.
- **Calcio:** A 100 mL de muestra añadir 2 mL de Sr de oxalato de amonio. No debe presentar turbidez.
- **Sólidos Totales:** Evaporar a sequedad 100 mL de muestra en baño maría y secar a 105°C durante 1 hora. El total de residuo no deberá ser mayor a 1 mg

- **Microbiología:**

- ✓ Aerobios totales: <10 ufc/g
- ✓ Mohos y levaduras: Ausente
- ✓ Patógenos: Ausencia

2.3.6.2. *Carbopol*

- **Descripción:** Polvo blanco, ligero, de olor tenue y característico. Higroscópico
- **Solubilidad:** Después de neutralizar con hidróxidos alcalinos, es soluble en agua, en alcohol.
- **Identificación:** Ajustando a un pH de 7,5 con solución 1N de hidróxido de sodio, forma un gel sumamente viscoso.
- **Perdida por secado:** 1 gramo de muestra a 80°C. No pierde más del 2.0% de su peso
- **Microbiología:**

- ✓ Aerobios totales: <10 ufc/g
- ✓ Mohos y levaduras: Ausente
- ✓ Patógenos: Ausencia

2.3.6.3. *Crodured*

- **Descripción:** Mezcla semisólida amarilento, derivado del aceite de castor, emulsificante y lubricante.
- **Solubilidad:** Soluble en agua, etanol y acetona.
- **Índice de saponificación:** Entre 50,0 a 60,0 mg KOH/g. Pesar alrededor de 2,5 mL de muestra (filtrada si no es transparente) en un erlenmeyer, adicionar 25 mL de KOH, conectar el condensador y hervir hasta que la grasa este completamente saponificada (aproximadamente 30 min). Enfriar y titular con HCl 0,5 N usando fenolftaleína como

indicador. Correr un blanco junto con las muestras. Reportar el índice de saponificación como los mg de KOH requeridos para saponificar un g de grasa.

2.3.6.4. *Dimeticona*

- **Descripción:** Líquido claro nuboso con un color ligeramente ámbar de olor característico
- **Viscosidad:** 190 - 220 centistokes
- **Densidad:** 0,964 – 0,972 g/MI
- **Perdida por secado:** 1 g de muestra a 105°C. Máximo 0,3%

2.3.6.5. *Glicerina*

- **Descripción:** Líquido siruposo claro e incoloro, de sabor dulce y no más de un ligero olor característico.
- **Color:** Visto contra una superficie blanca, no es más oscura en comparación a un estándar (0,4 mL de cloruro férrico en 50 mL de agua).
- **Identificación:** Mezclar 1 mL de la muestra, agregar cuidadosamente 0,5 mL de ácido nítrico, de no mezclar adicionar 0,5 mL de solución de dicromato de potasio (10,6:10 m/v) se forma un anillo azul en la interface de los líquidos. Dejar reposar 10 minutos. El color no se difunde a la capa inferior.
- **Solubilidad:** Miscible con agua, alcohol y metanol. Insoluble en cloroformo y éter.
- **Densidad:** No menor de 1,249 g/mL
- **Cloruros:** 1g de muestra en 10 mL de agua, adicionar 5 gotas de HNO₃ concentrado y 0,5 mL AgNO₃. No debe haber presencia de precipitado blanco.
- **Sulfatos:** 1g de muestra en 3 gotas HCl concentrado, adicionar 5 gotas de Cl₂Ba

- **Microbiología:**

- ✓ Aerobios totales: <10 ufc/g
- ✓ Mohos y levaduras: <10 ufc/g
- ✓ Patógenos: Ausencia

2.3.6.6. *Goma xantan*

- **Descripción:** Polvo fino de color blanco a cremoso; el polvo es inodoro e insípido
- **Solubilidad:** Soluble en agua fría o caliente dando soluciones altamente viscosas
- **pH:** La solución acuosa es neutra al tornasol.
- **Pérdida de peso:** 2 g. de muestra a 105 ° C, la pérdida no debe ser más del 15% de su peso.
- **Microbiología:**

- ✓ Aerobios totales: <10 ufc/g
- ✓ Mohos y levaduras: <10 ufc/g
- ✓ Patógenos: Ausencia

2.3.6.7. *Metil Parabeno Sódico*

- **Descripción:** Polvo cristalino blanco de tenue olor característico y sabor quemante leve.
- **Solubilidad:** fácilmente soluble en alcohol y éter. Ligeramente soluble en agua y benceno.
- **Punto de Fusión:** 125 - 128°C
- **pH:** Entre 9,5 y 10,5

- **Microbiología:**

- ✓ Aerobios totales: <10 ufc/g
- ✓ Mohos y levaduras: <10 ufc/g
- ✓ Patógenos: Ausencia

2.3.6.8. *Propil Parabeno Sódico*

Según la USP 30 /Farmacia Remington 17 A. Ed.

- **Descripción:** Polvo cristalino blanco, inodoro o con algún olor característico. Hidroscópico.
- **Identificación:** Llevar a Ignición cerca de 0,3 g de muestra, enfriar y disolver el residuo en 3 mL de HCl 3N. Esta solución impregnada en un asa de platino imparte un intenso y persistente color amarillo a la llama.
- **Solubilidad:** Soluble en agua y alcohol, insolubles en aceites.
- **pH:** Entre 9,5 y 10,5 en una solución 1:100
- **Microbiología:**

- ✓ Aerobios totales: <10 ufc/g
- ✓ Mohos y levaduras: <10 ufc/g
- ✓ Patógenos: Ausencia

2.3.6.9. *Trietanolamina*

- **Descripción:** Líquido incoloro o amarillo pálido, viscoso e higroscópico que tiene un ligero olor amoniacal. Se torna café por exposición a la luz y aire.
- **Solubilidad:** Miscible con agua y alcohol, soluble en cloroformo, y ligeramente soluble en éter o benceno.

- **Identificación:**
 - A. Calentar 1 mL de la muestra lentamente en un tubo de ensayo, los vapores cambian el color del papel tornasol rojo a azul.
 - B. Mezclar 1 mL de la muestra con 1 mL de HCl; la temperatura de fusión del precipitado obtenido después de lavarlo con alcohol y secarlo es de 178 ° C aproximadamente.
- **Gravedad Específica:** Entre 1,120 y 1,128
- **Microbiología:**
 - ✓ Aerobios totales: <10 ufc/g
 - ✓ Mohos y levaduras: <10 ufc/g
 - ✓ Patógenos: Ausencia

2.3.6.10. Tween 80 (Polisorbato)

Según la USP 30 /Farmacia Remington 17 A. Ed.

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

2.3.7. ELABORACIÓN DEL GEL

2.3.7.1. Elaboración del gel de los extractos lipídicos

1. Se realizara en dos fases:

Fase Oleosa: extracto lipídico, glicerina croduret y tween 80

Fase acuosa: Carbopol, goma xantan, dimeticona, TEA, Metil y Propil parabenos sódicos, y Agua

2. Realizar la fase oleosa mezclar el extracto lipídico, glicerina, cloduret y tween 80, agitar de manera constante hasta obtener una mezcla homogénea.
3. En 3 mL de agua caliente disolver 0,09 g de M.P.S y 0,1 P.P.S
4. Mezclar 90 mL de agua con goma xantan, una vez mezclado sin presencia de grumos, mezclar con 0,8g de carbopol y de igual manera mezclar bien. Dejar reposar 1 día
5. A la mescla de goma xantan y Carbopol se añade 2,4 g de Dimeticona y 0,4 g de TEA. Agitar bien. Obteniendo la fase acuosa
6. A la fase oleosa se le agrega la fase acuosa agitando constantemente hasta obtener una mescla homogénea. (ANEXO N° 11)

2.3.7.2. Elaboración del gel para extractos etanólicos y saponinas

Para la elaborar los geles etanólicos y de saponinas se realizará en tres pasos

1. Paso 1: Mezclar 90 mL de agua + 0,8 g de Carbopol + 0,2g de Goma Xantan + 2,4 g de Dimeticona + 0,4 g de TEA. Al igual que en el gel de lípidos el agua+ Carbopol+ Goma Xantan deberá mezclarse previo un día antes. Para después incorporar los otros excipientes.
2. Paso 2: En 3 mL de agua caliente disolver 0,090 g de Metil Parabeno Sódico + 0,010 g de Propil Parabeno Sódico.
3. Paso 3: Mezclar 2 g de extracto +1 g de glicerina.
4. Para la elaboración del gel mezclar paso 2 y 3.
5. Al paso 3 se incorpora la mezcla del paso 2 y 3. Todas las mezclas agitar constantemente.

2.3.8. CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES

2.3.8.1. Parámetros organolépticos

Aspecto: Revisar que el gel sea fácilmente untuoso y homogéneo, no exista presencia de partículas extrañas.

Color: Identificar el color característico del gel obtenido comparado con el color de los extractos.

Olor: Debe presentar un olor característico a los ingredientes presentes en la formulación.

2.3.8.2. Parámetros Físicos

✓ **Determinación de pH**

1. Calibrar el equipo antes de realizar la lectura. Esta calibración se realizará con soluciones buffer de pH 4, 7 y 10. Una vez concluida la calibración.
2. Proceder a realizar las respectivas lecturas de cada gel. Presentando un pH 4-7 siguiendo los lineamientos de la USP 28.

✓ **Determinación de la Extensibilidad**

- Utilizar un medidor de extensibilidad.
- Colocar 1 g de muestra en el aparato y realizar presión. Con ayuda de una regla medir la extensibilidad. Se acepta máximo 4,5 cm. siguiendo los lineamientos de la USP 28.

2.3.8.3. Parámetros Microbiológicos

Los análisis microbiológicos son importantes para verificar que el producto no este contaminado, y que se ha realizado la correcta manipulación desde la materia prima hasta

obtener el producto terminado. La técnica a utilizar es aplicación de placas petrifilm para coliformes, aerobios mesófilos, mohos y levaduras.

✓ **Determinación de aerobios mesófilos, mohos, levaduras y coliformes – Petri film**

Estas placas ya vienen preparadas. Tiene una capa delgada de agar, indicadores de pH que colorean las colonias para una fácil identificación. Están han sido diseñadas para el recuento de la UFC de aerobios, coliformes, mohos y levaduras.

1. Rotular las placas petrifilm
2. Colocar en 1 g de gel con 9 mL de agua estéril.
3. Levantar la película que se encuentra en la parte superior de la placa.
4. Colocar 1 mL de la disolución en el círculo que se encuentra en la placa en la parte inferior
5. Cerrar cuidadosamente para evitar la entrada de burbujas.
6. Incubar a 35°C por 24 h Aerobios mesófilos y coliformes totales y 72 h mohos – levaduras.
7. Repetir el mismo procedimiento para las demás geles.
8. Contar el número de colonias.

2.3.9. EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LOS GELES ELABORADOS A PARTIR DE DOS VARIEDADES DE QUINUA EN RATONES (*Mus musculus*)

Se evaluará el efecto cicatrizante utilizando a la Trolamina (Biafine) como medicamento control y se comprobará el porcentaje de mejora de la cicatrización.

1. Se realizará un proceso de adaptación del ratón, proporcionándole alimento y agua.
2. Depilar el lomo del ratón con una crema depilatoria Veet, dejar en reposo 24 horas. Antes de realizar el la incisión de la herida.

3. En la parte depilada, se aplicara 0,1 mL de lidocaína al 2% sub dérmica, para anestésiar la parte donde se realizará el corte.
4. Realizar un corte con un sacabocado N° 3. La herida deberá ser de 0,8 cm² de diámetro y 2 mm de profundidad.
5. Limpiar la herida antes de aplicar el gel con suero fisiológico.
6. Aplicar el gel en la herida aproximadamente 0,5 g. durante catorce días, dos veces al día.

2.3.9.1. Obtención de cortes histopatológicos

Después de la aplicación del gel durante los catorce días. Se procederá a realizar nuevamente los cortes para la evaluación histopatológica.

1. Anestésiar al ratón aplicando una dosis de lidocaína intraperitoneal.
2. Realizar un corte histopatológico con un sacabocado N° 3
3. Colocar el corte en un cassette de inclusión para tejidos.
4. Identificar el cassette para cada tejido obtenido
5. Colocar el cassette en formol al 10%. Con el fin de conservar el tejido hasta llevar al laboratorio histopatológico

2.3.9.2. Evaluación Histopatológica

1. Retirar el exceso de formol colocando los cassettes en chorro de agua
2. Colocar los cassettes en el procesador de tejidos durante 18 h. Con el fin de conservar la morfología, composición y características propias del tejido.
3. Se procede a sacar los cassettes.
4. Colocar parafina fundida en un molde rectangular utilizando el dispensador de parafina.
5. Colocar el tejido encima del molde y encima colocar el cassette realizando presión. Con el fin de obtener un bloque que ayude en el proceso del corte.

6. Dejar el molde en una plancha de hielo para que se forme el bloque.
7. Colocar el cassette con el bloque de tejido - parafina en el micrótopo y comenzar a retirar el exceso de parafina.
8. Una vez, retirado el exceso, se puede apreciar el tejido. Proceder a realizar un corte con el micrótopo.
9. Colocar ese corte en baño de fijación, con el objetivo de extender el tejido para poder identificar celular superpuestas en el tejido y la matriz celular.
10. Colocar en una placa el corte, previamente identificado.
11. Colocar las placas en estufa a 60°C para eliminar la parafina y solo exista el tejido en sí.
12. Realizar la tinción hematoxilina y eosina.
13. Leer con lente 10X.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. EVALUACIÓN DE LOS EXTRACTOS

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

CUADRO N° 1: EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO Y LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE CADA EXTRACTO.

EXTRACTOS	PARÁMETROS			
	Rendimiento	Color	Olor	Aspecto
E. LIP. QCB	5,07 %	Anaranjado	Característico a la quinua	Ligeramente denso – propio de los aceites
E.LIP.QTUN	4,77 %	Amarillo anaranjado	Característico a la quinua	Ligeramente denso – propio de los aceites
E.ETA.QCB	2,87 %	Café claro	Característico a la quinua	Ligeramente Turbio
E.ETA.QTUN	2,95 %	Amarillo anaranjado	Característico a la quinua	Ligeramente transparente
E.SAP.QCB	1,17 %	Café	Característico a la quinua	Ligeramente Denso
E.SAP. QTUN	2,33 %	Café Claro	Característico a la quinua	Ligeramente denso

AUTOR: Villarreal, A. 2014

Se partió de 200 g de muestra de quinua molina, obteniendo un porcentaje de rendimiento representativo en cada variedad, en cuanto a los parámetros organolépticos cada extracto presenta su propio color, olor y aspecto debido a que cada variedad es única, estas características son propias de cada extracto empleando la utilización de los órganos de los sentidos.

3.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE LA QUINUA

Se realizó una análisis cualitativo, es decir se identificó la presencia de metabolitos secundarios mediante reacciones colorimétricas.

CUADRO N° 2: ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE LA VARIEDA. CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUAN

ENSAYO	METABOLITO SECUNDARIO	QUINUA CRIOLLA BLANCA	QUINUA TUNKAHUAN
Cloruro Férrico	Tanino	+++	+++
Ninhidrina	Aminoácidos Libres	+++	+++
Lieberman Buchard	Triterpenos y/o esteroides	+++	+++
Borntranger	Antraquinonas	-	-
Antocianinas	Flavonoides	+++	+++
Baljet	Lactonas y Cumarinas	+	+
Fehling	Azucares	++	++
Espuma	Saponinas	+++	+++
Shinoda	Flavonoides	+++	+++
Dragendorff	Alcaloiedes	-	-
Sudan	Aceites y Grasas	+++	+++

(Villarreal, A. 2014)

INTERPRETACIÓN

Abundante contenido de metabolitos secundario: +++

Moderado contenido de metabolitos secundarios: ++

Considerable contenido de metabolitos secundarios: +

Ausencia de metabolitos secundarios: -

Los metabolitos secundarios más representativos encontrados en el análisis fitoquímico son: Taninos, Aminoacidos libres, flavonoides, saponinas, grasas y Triterpenos y/o esteroides. Al

comparar con bibliografía concuerdan los metabolitos secundarios reportados por Guapi, 2013. En moderada abundancia encontramos azúcares, cumarinas y lactonas. Los metabolitos más representativos presentan una gran importancia en esta investigación debido a ayudan al proceso de cicatrización. Estos metabolitos de gran importancia son los Flavonoides, saponinas y aceites grasos.

3.3. BIOENSAYO DE TOXICIDAD SOBRE *Artemia salina*

Este ensayo fue realizado para evaluar la toxicidad de los extractos y realizar un acercamiento a la CL50, si los compuestos presentan citotoxicidad. Se evaluó aplicando el programa estadístico TSK (Recortada Spearman – Karber del programa, versión 1.5), utilizado por la Agencia de Protección Ambiental Estados Unidos (US-EPA) para el cálculo de los valores de CL50 y sus intervalos de confianza en el nivel de 95% de probabilidad para cada extracto analizado.

FIGURA N° 12: DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN *Artemia salina* DEL EXTRACTO ETANÓLICO QUINUA TUNKAHUAN.

```

10 47 77
WOULD YOU LIKE THE AUTOMATIC TRIM CALCULATION<Y/N>?

DATE: 2014/05/          TEST NUMBER: 1          DURATION: 1 D
TOXICANT : ETA.TUN
SPECIES: Artemia salina

RAW DATA: Concentration      Number      Mortalities
-----
            (PPM)            Exposed
            .00                100          0
            10.00             100          10
            100.00            100          47
            1000.00           100          77

SPEARMAN-KARBER TRIM:                23.00%

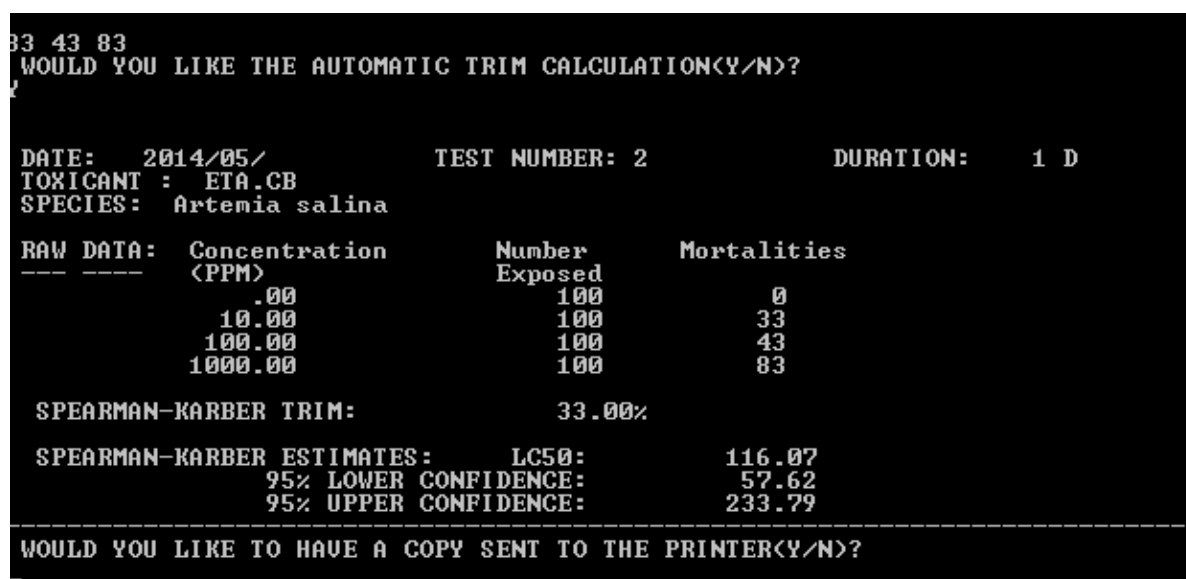
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:   LC50:          136.03
                              95% LOWER CONFIDENCE: 83.40
                              95% UPPER CONFIDENCE: 221.87
-----
WOULD YOU LIKE TO HAVE A COPY SENT TO THE PRINTER<Y/N>?

```

En la figura N°12 expresa que la CL 50 que causa el extracto etanólico de Quinoa Tunkahuan en *Artemia salina* es de 136,03 ppm. El efecto toxico se encuentra entre los rangos de 83,40 – 221,87 ppm. El porcentaje de error es de 23% debido a que el rango donde se encuentra el efecto toxico es muy amplio y no se puede definir en qué concentración se encuentra el efecto toxico.

Se considera al extracto moderadamente toxico, debido a que se encuentra en el rango de $100 < CL_{50} < 1\ 000$ según el grado de toxicidad en *Artemia salina*.

FIGURA N° 13: DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN *Artemia salina* DEL EXTRACTO ETANÓLICO QUINUA CRIOLLA BLANCA.



En la figura N° 13 expresa que la CL 50 que causa el extracto etanólico de Quinoa Criolla Blanca en *Artemia salina* es de 116,07 ppm. El efecto toxico se encuentra entre los rangos de 57,62 ppm – 233,79. El porcentaje de error es de 33% debido a que el rango donde se encuentra el efecto toxico es muy amplio y no se puede diagnosticar en que concentración se encuentra el efecto toxico.

Se considera al extracto moderadamente toxico, debido a que se encuentra en el rango de $100 < CL_{50} < 1\ 000$ según el grado de toxicidad en *Artemia salina*.

FIGURA N° 14: DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN *Artemia salina* DEL EXTRACTO LIPÍDICO DE QUINUA TUNKAHUAN.

```

0 20 50
WOULD YOU LIKE THE AUTOMATIC TRIM CALCULATION<Y/N>?
Y

DATE: 2014/05/          TEST NUMBER: 3          DURATION: 1 D
TOXICANT : LIP.TUN
SPECIES: Artemia salina

RAW DATA: Concentration      Number      Mortalities
-----      (PPM)          Exposed
              .00              100          0
              10.00             100          0
              100.00            100          20
              1000.00           100          50

SPEARMAN-KARBER TRIM:              50.00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:  LC50:              1000.00
                              95% CONFIDENCE LIMITS
                              ARE NOT RELIABLE.
-----
WOULD YOU LIKE TO HAVE A COPY SENT TO THE PRINTER<Y/N>?

```

En la figura N° 14 expresa observar que la CL 50 que causa el extracto lipídico de Quinoa Tunkahuan en *Artemia salina* es de 1000,0 ppm. El efecto toxico se encuentra en un rango en que el programa no encuentra el límite de seguridad, por lo cual el error es de 50%. Se considera al extracto moderadamente toxico, debido a que se encuentra en el rango de $100 < CL_{50} < 1\ 000$ según el grado de toxicidad en *Artemia salina*.

FIGURA N° 15: DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN *Artemia salina* DEL EXTRACTO LIPÍDICO DE QUINUA CRIOLLA BLANCA

```

10 60 90
WOULD YOU LIKE THE AUTOMATIC TRIM CALCULATION<Y/N>?
Y

DATE: 2014/05/          TEST NUMBER: 4          DURATION: 1 D
TOXICANT : LIP.CB
SPECIES: Artemia salina

RAW DATA: Concentration      Number      Mortalities
-----
              (PPM)          Exposed
              .00             100         0
              10.00           100         10
              100.00          100         60
              1000.00         100         90

SPEARMAN-KARBER TRIM:          10.00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:    LC50:          74.99
                              95% LOWER CONFIDENCE: 55.15
                              95% UPPER CONFIDENCE: 101.97
-----
WOULD YOU LIKE TO HAVE A COPY SENT TO THE PRINTER<Y/N>?

```

En la figura N° 15 expresa que la CL 50 que causa el extracto lipídico de Quinoa Criolla blanca en *Artemia salina* es de 74,99 ppm. El efecto toxico se encuentra entre los rangos de 55,15 – 101,97 ppm. El porcentaje de error es de 10% este es bajo a comparación con los otros extracto debido a que el rango donde se encuentra el efecto toxico es más estrecho por lo cual el porcentaje de confiabilidad es seguro.

Se considera al extracto muy toxico, debido a que se encuentra en el rango de $10 < CL_{50} < 100$ según el grado de toxicidad en *Artemia salina*. Este extracto es muy toxico a nivel celular.

FIGURA N° 16: DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN ARTEMIA SALINA DEL EXTRACTO DE SAPONINAS DE QUINUA TUNKAHUAN.

```

10 30 80
WOULD YOU LIKE THE AUTOMATIC TRIM CALCULATION<Y/N>?
Y

DATE: 2014/05/          TEST NUMBER: 5          DURATION: 1 D
TOXICANT : SAP.TUN
SPECIES: Artemia salina

RAW DATA:  Concentration      Number      Mortalities
-----  -----
              (PPM)            Exposed
              .00                100         0
              10.00               100         10
              100.00              100         30
              1000.00             100         80

SPEARMAN-KARBER TRIM:                20.00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:    LC50:          237.14
                              95% LOWER CONFIDENCE: 154.97
                              95% UPPER CONFIDENCE: 362.87
-----
WOULD YOU LIKE TO HAVE A COPY SENT TO THE PRINTER<Y/N>?

```

En la figura N° 16 expresa que la CL 50 que causa el extracto de saponinas de Quinoa Tunkahuan en *Artemia salina* es de 237,14 ppm. El efecto toxico se encuentra entre los rangos de 155,97 – 362,87 ppm. El porcentaje de error es de 20% este es bajo a comparación con los otros extracto debido a que el rango donde se encuentra el efecto toxico es más estrecho por lo cual el porcentaje de confiabilidad es seguro.

Se considera al extracto moderadamente toxico, debido a que se encuentra en el rango de $100 < CL_{50} < 1000$ según el grado de toxicidad en *Artemia salina*.

FIGURA N° 17 : DETERMINACIÓN DE LA CL50 EN *Artemia salina* DEL EXTRACTO DE SAPONINAS DE QUINUA CRIOLLA BLANCA

```

20 30 80
WOULD YOU LIKE THE AUTOMATIC TRIM CALCULATION<Y/N>?
Y

DATE: 2014/05/          TEST NUMBER: 6          DURATION: 1 D
TOXICANT : SAP.CB
SPECIES: Artemia salina

RAW DATA: Concentration      Number      Mortalities
--- ----  (PPM)              Exposed
          .00                100         0
          10.00              100         20
          100.00             100         30
          1000.00            100         80

SPEARMAN-KARBER TRIM:          20.00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:    LC50:          215.44
                              95% LOWER CONFIDENCE: 142.50
                              95% UPPER CONFIDENCE: 325.72
-----
WOULD YOU LIKE TO HAVE A COPY SENT TO THE PRINTER<Y/N>?

```

En la figura N° 17 expresa que la CL 50 que causa el extracto de saponinas de Quinoa Criolla Blanca en *Artemia salina* es de 215,44 ppm. El efecto toxico se encuentra entre los rangos de 142,50 – 101,97 ppm. El porcentaje de error es de 10% este es bajo a comparación con los otros extracto debido a que el rango donde se encuentra el efecto toxico es más estrecho por lo cual el porcentaje de confiabilidad es seguro. Se considera al extracto moderadamente toxico, debido a que se encuentra en el rango de $100 < CL_{50} < 1\ 000$ según el grado de toxicidad en *Artemia salina*.

Los extractos etanólicos y de saponinas de la Quinoa Criolla Blanca son considerados moderadamente tóxicos. Mientras que el extracto lipídico de esta variedad es considerado con muy toxico. Los extractos etanólicos, lipídicos y de saponinas de la Quinoa Tunkahuan son considerados moderadamente tóxicos. Estas CL50 son evaluadas según el grado de toxicidad de cada extracto analizado. (ANEXO N° 6)

3.4. EVALUACIÓN DE LA DOSIS LETAL 50

Para este análisis se utilizaron 15 ratones machos cepa B ALB/C con pesos entre 36 - 45 g. Siendo estos administrados en diferentes dosis. Cada grupo estuvo conformado por 3 ratones, total de grupos 4, cada grupo recibió la dosis de 5000 mg/Kg, 2500 mg/Kg, 1250 mg/Kg y 625 mg/Kg respectivamente. Y un grupo más como control.

CUADRO N° 3: RESULTADOS DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DE QUINUA: TUNKAHUAN Y CRIOLLA BLANCA

Dosis (mg/Kg)	E. ETA. Q.TUN		E. ETA. Q CB	
	Numero de Ratones(inicio)	Numero de Ratones Muertos	Numero de Ratones(inicio)	Numero de Ratones Muertos
5000	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0
2500	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0
1250	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0
625	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0

AUTOR: Villarreal, A. 2014

El ensayo para el extracto etanólico Quinoa Tunkahuan los ratones fueron evaluados durante siete días después de la administración sin presentar mortalidad. Pero si presentaron efectos secundarios después de la administración. A la dosis de 5000 mg/Kg presentaron durante las 6

primeras horas disminución de la actividad motora, pérdida de reflejo del enderezamiento, disminución de la actividad prensil y disminución del equilibrio. Desarrollándose con normalidad durante los 7 días posteriores. A la dosis de 2500 mg/Kg presentaron durante las 3 primeras horas erección del pilo, desarrollándose con normalidad los demás parámetros evaluados. A la dosis 1250 mg/Kg y 625 mg/Kg se desarrollaron con normalidad sin presentar ningún cambio en su comportamiento y en los parámetros evaluados.

El ensayo para el extracto etanólico Quinoa Criolla Blanca no presentaron mortalidad a ninguna de las dosis. Pero en la dosis de 5000 mg/ Kg presentaron disminución de la actividad motora durante los 30 primeros minutos, desarrollándose de forma normal durante los 7 días. En la dosis de 2500 mg/Kg presentaron disminución de la actividad motora, erección del pilo, pasivo y disminución de la actividad prensil durante los 10 primero minutos. En la dosis de 1250 mg/ Kg y 625 mg/Kg no se vieron afectados ninguno de los parámetros evaluados. Por lo cual estas dosis no presentan ningún efecto significativo en los ratones

CUADRO N° 4: RESULTADOS DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO DE SAPONINAS DE LA QUINUA TUNKAHUAN

Dosis (mg/Kg)	E. SAP. Q.TUN		E. SAP. Q CB	
	Numero de Ratones(inicio)	Numero de Ratones Muertos	Numero de Ratones(inicio)	Numero de Ratones Muertos
5000	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0
2500	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0
1250	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0

AUTOR: Villarreal, A. 2014

CUADRO N° 4: RESULTADOS DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO DE SAPONINAS DE LA QUINUA TUNKAHUAN Y CRIOLLA BLANCA (Continuación)

Dosis (mg/Kg)	E. SAP. Q.TUN		E. SAP. Q CB	
	Numero de Ratonés(inicio)	Numero de Ratonés Muertos	Numero de Ratonés(inicio)	Numero de Ratonés Muertos
625	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0

AUTOR: Villarreal, A. 2014

La toxicidad aguda para el extracto de saponina de la quinua tunkahuan no presento mortalidad en los animales. Pero si presenta efectos secundarios como disminuci3n de la actividad motora y pasivo durante dos d3as consecutivos despu3s del primer contacto con el extracto, un par3metro muy importante que no se present3 en los otros extractos evaluados fue la erecci3n de la cola durante las 3 primeras horas despu3s de la administraci3n, esto se debe que las saponinas est3n actuando en el sistema nerviosa del rat3n, porque en la cola se encuentran la terminales nerviosos. La dosis de 2500 mg/Kg, 1250 mg/Kg y 625 mg/Kg no presentaron ning3n cambio en el comportamiento del rat3n. Considerando estas dosis como seguras.

El extracto de saponinas de la Quinoa Criolla Blanca a la dosis de 5000 mg/ Kg causo disminuci3n de la actividad prensil, pasivo, disminuci3n de equilibrio, reflejo corneal, actividad prensil durante las tres primeras horas despu3s de la administraci3n. Mientras que la dosis de 2500 mg/Kg, 1250 mg/Kg y 625 mg/Kg no presentaron ning3n efecto sobre los ratones. Tampoco existi3 mortalidad de los mismos.

3.4.1. EVALUACIÓN DE LA DL50 DE EXTRACTOS LIPÍDICOS

Para la evaluación de la DL50 de los extractos lipídicos se utilizó 15 ratones por cada variedad de quinua, distribuidos aleatoriamente en 5 grupos, cada grupo está formado por 3 ratones, un grupo es el control y los 4 grupos restantes se administraron el aceite en dosis de 64 mL/Kg, 32 mL/Kg, 16 mL/Kg y 8 mL/Kg respectivamente.

CUADRO N° 5: RESULTADO DEL ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO LIPÍDICO DE QUINUA TUNKAHUAN Y CRIOLLA BLANCA

Dosis (mL/Kg)	E. LIP. Q.TUN		E. LIP. Q CB	
	Numero de Ratones(inicio)	Numero de Ratones Muertos	Numero de Ratones(inicio)	Numero de Ratones Muertos
64	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0
32	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0
16	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0
8	3	0	3	0
	3	0	3	0
	3	0	3	0

AUTOR: Villarreal, A. 2014

Para el aceite de Quinoa Tunkahuan se administró directamente, no presentaron mortalidad. A la dosis de 64 mL/Kg presentaron efectos secundarios como disminución de la actividad motora y se encontraban pasivos durante las 3 primeras horas, también hubo presencia de

diarrea a las 10h después de la administración permaneciendo hasta las 24 h. Los otros parámetros evaluados se desarrollaron de forma normal el resto de tiempo hasta cumplir los 7 días. A la dosis de 32 mL/ Kg solo presentaron erección del pilo durante la primera hora después de la administración. En el caso de las dosis de 16 mL/Kg y 8 mL/Kg no presentaron ningún tipo de efecto durante los días evaluados.

No existió mortalidad en el grupo del extracto lipídico de Criolla Blanca. Pero si efectos secundarios en la dosis de 64 mL/Kg no hubo cambios de los parámetros hasta las 3 h, a partir de esta los ratones presentaron diarrea, persistiendo hasta las 6 h, después se desarrolló cada parámetro de forma normal. En la dosis de 32 mL/Kg, 16 mL/ Kg y 8 mL/ Kg no presento cambios en los parámetros evaluados. (Anexo N° 8)

3.5. CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA

El control de calidad de la materia prima es importante, porque son los excipientes que se van a ocupar en la formulación del gel, por el cual deben cumplir todas las especificaciones validados por la USP, para obtener un producto final de calidad e inocuo.

3.5.1. AGUA PURIFICADA

CUADRO N° 6: CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA PURIFICADA

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Descripción	Líquido transparente, incoloro e inodoro	Conforme
Ph	5,0 – 7,5	6,14
Conductividad	No menor a 0.13 μ S/cm	0
Cloruros	No debe manifestar opalescencia en la solución luego de transcurrir 15 minutos.	Conforme
Sulfatos	No debe presentar turbidez.	Conforme
Calcio	No debe presentar turbidez.	Conforme

AUTOR: Villarreal, A. 2014

CUADRO N° 6: CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA PURIFICADA (Continuación)

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Solidos Totales	El total de residuo no deberá ser mayor a 1 mg	0,82 mg
Microbiológico	Aerobios totales: <10 ufc/g	Conforme
	Mohos y levaduras: Ausencia	Conforme
	Patógenos: Ausencia	Ausente

AUTOR: Villarreal, A. 2014

El agua purificada cumple con todas las especificaciones expresadas por la USP 35 Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 5 ta. Ed.

3.5.2. CARBOPOL**CUADRO N°7: CONTROL DE CALIDAD CARBOPOL**

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Descripción	Polvo blanco, ligero, de olor tenue y característico. Higroscópico.	Conforme
Solubilidad	Después de neutralizar con hidróxidos alcalinos, es soluble en agua, en alcohol.	Conforme
Identificación	Ajustando a un pH de 7,5 con solución 1N de hidróxido de sodio, forma un gel sumamente viscoso.	Positivo
Perdida por secado	No pierde más del 2,0% de su peso	0,89 %
Microbiológico	Aerobios Totales: <100 ufc/g	Conforme
	Mohos y Levaduras: <10 ufc/g	Conforme
	Patógenos: Ausencia	Ausente

AUTOR: Villarreal, A. 2014

En el Cuadro N° 7 correspondiente al Carbopol cumple con todos los parámetros establecidos por la USP 35.

3.5.3. CRODURET

CUADRO N° 8: CONTROL DE CALIDAD DEL CRODURET

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

AUTOR: Villarreal, A. 2014

En el Cuadro N° 8 correspondiente al Croduret cumple con todos los parámetros establecidos por la USP 35.

3.5.4. DIMETICONA

CUADRO N°9: CONTROL DE CALIDAD DE LA DIMETICONA

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

(Villarreal, A.)

En el Cuadro N° 9 correspondiente al Carbopol cumple con todos los parámetros establecidos por la USP 35.

3.5.5. GLICERINA

CUADRO N° 10: CONTROL DE CALIDAD GLICERINA

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Descripción	Líquido siruposo claro e incoloro, de sabor dulce y no más de un ligero olor característico.	Conforme
Color:	Visto contra una superficie blanca, no es más oscura en comparación a un estándar (0,4 mL de cloruro férrico en 50 mL de agua).	Conforme
Identificación	Se forma un anillo azul en la interface de los líquidos.	Positivo
Solubilidad	Misible con agua, alcohol y metanol. Insoluble en cloroformo y éter.	Conforme
Densidad	No menor de 1,249 g/mL	1,283 g/MI
Cloruros	No debe haber presencia de precipitado blanco.	Conforme
Sulfuros	No debe haber presencia de precipitado blanco.	Conforme
Microbiológico	Aerobios Totales: <100 ufc/g	Conforme
	Mohos y Levaduras: <10 ufc/g	Conforme
	Patógenos: Ausencia	Ausente

AUTOR: Villarreal, A. 2014

En el Cuadro N° 10 correspondiente a la glicerina cumple con todos los parámetros establecidos por la USP 35.

3.5.6. GOMA XANTAN

CUADRO N° 11: CONTROL DE CALIDAD DE LA GOMA XANTAN

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Descripción	Polvo fino de color blanco a cremoso; el polvo es inodoro e insípido	Conforme
Solubilidad	Soluble en agua fría o caliente dando soluciones altamente viscosas	Conforme
pH	La solución acuosa es neutra al tornasol.	7
Perdida por secado	La pérdida no debe ser más del 15% de su peso.	8,95%
Microbiológico	Aerobios Totales: <100 ufc/g	Conforme
	Mohos y Levaduras: <10 ufc/g	Conforme
	Patógenos: Ausencia	Ausente

AUTOR: Villarreal, A. 2014

En el Cuadro N° 11 correspondiente a la goma xantan cumple con todos los parámetros establecidos por la USP 35.

3.5.7. METILPARABENO SÓDICO

CUADRO N° 12: CONTROL DE CALIDAD METIL PARABENO SÓDICO

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Descripción	Polvo cristalino blanco de tenue olor característico y sabor quemante leve	Conforme
Solubilidad	fácilmente soluble en alcohol y éter	Conforme
Punto de Fusión	125 - 128°C	126,1°C
pH	Entre 9,5 y 10,5	10,3

AUTOR: Villarreal, A. 2014

CUADRO N° 12: CONTROL DE CALIDAD METIL PARABENO SÓDICO
(Continuación)

Parámetros	Especificaciones	Resultados
Microbiológico	Aerobios Totales: <100 UFC/g	Conforme
	Mohos y Levaduras: <10 UFC/g	Conforme
	Patógenos: Ausencia	Ausente

AUTOR: Villarreal, A. 2014

En el Cuadro N° 12 correspondiente al metil parabeno sódico cumple con todos los parámetros establecidos por la USP 30.

3.5.8. PROPIL PARABENO SÓDICO

CUADRO N° 13: CONTROL DE CALIDAD PROPIL PARABENO SÓDICO

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

AUTOR: Villarreal, A. 2014

En el Cuadro N° 13 correspondiente al Propil parabeno sódico cumple con todos los parámetros establecidos por la USP 30.

3.5.9. TRIETANOLAMINA

CUADRO N° 14: CONTROL DE CALIDAD DE LA TRIETANOLAMINA

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

AUTOR: Villarreal, A

En el cuadro N° 14 correspondiente a la glicerina cumple con todos los parámetros establecidos por la USP 30.

3.5.10. TWEEN 80 (POLISORBATO 80)

CUADRO N° 15: CONTROL DE CALIDAD DE TWEEN 80

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

(Villarreal, A. 2014)

En el cuadro N° 15 correspondiente al Tween 80 cumple con todos los parámetros establecidos por la USP 35.

3.6. CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO

Se realiza el control de calidad de cada gel elaborado a partir de los extractos etanólicos, lipídicos y de saponinas. Con el fin de obtener un producto inocuo que cumpla con las especificaciones necesarias para ser un producto seguro para ser aplicado en la piel.

CUADRO N° 16: CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES DE EXTRACTOS LIPÍDICOS

	PARÁMETROS ORGANOLEPTICOS			
	E.LIP.QCB.1 %	E.LIP.QCB.2 %	E.LIP.TUN.1 %	E.LIP.TUN.2 %
COLOR	Blanco ligeramente amarillo	Ligeramente amarillo	Blanco ligeramente amarillo	Ligeramente amarillo
OLOR	Característico a la quinua	Característico a la quinua	Característico a la quinua	Característico a la quinua
ASPECTO	Gel untuoso	Gel untuoso	Gel untuoso	Gel untuoso
PÁRAMETROS FISICOS				
pH	5,83	5,87	6,13	6,07
EXTENSIBILIDA D	3,5	3,8	3,3	3,6
PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS				
Aerobios Mesófilos	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Coliformes Totales	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Hongos y levaduras	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme

AUTOR: Villareal,2014

CUADRO N° 17: CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES DE EXTRACTOS ETANÓLICOS

	PARÁMETROS ORGANOLEPTICOS			
	E.ETA.QCB.1%	E.ETA.QCB.2%	E.ETA.TUN.1%	E.ETA.TUN.2%
COLOR	Amarillo ligeramente transparente	Amarillo ligeramente transparente	Amarillo ligeramente transparente	Amarillo ligeramente transparente
OLOR	Característico a la quinua	Característico a la quinua	Característico a la quinua	Característico a la quinua
ASPECTO	Gel untuoso	Gel untuoso	Gel untuoso	Gel untuoso
PARÁMETROS FISICOS				
pH	5,86	5,90	6,07	6,16
EXTENSIBILIDAD	3,1	3,2	4,1	4,0
PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS				
Aerobios Mesófilos	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Coliformes Totales	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Hongos y levaduras	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme

AUTOR: Villarreal, A. 2014

CUADRO N° 18: CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES DE EXTRACTOS DE SAPONINAS

	PARÁMETROS ORGANOLEPTICOS			
	E.ETA.QCB.1%	E.ETA.QCB.2%	E.ETA.TUN.1%	E.ETA.TUN.2%
COLOR	Café Claro	Café Claro	Café Claro	Café Claro
OLOR	Característico a la quinua	Característico a la quinua	Característico a la quinua	Característico a la quinua
ASPECTO	Gel untuoso	Gel untuoso	Gel untuoso	Gel untuoso
PÁRAMETROS FISICOS				
pH	5,85	6,15	6,28	6,31
EXTENSIBILIDAD	3,6	4,1	3,6	4,0
PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS				
Aerobios Mesófilos	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Coliformes Totales	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Hongos y levaduras	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme

AUTOR: Villarreal, A. 2014

Los geles de los extractos lipídicos presentaron una característica específica que la diferencia de los otros geles. Los geles etanólicos presentaron un color amarillo transparente mientras que los geles de los extractos de saponinas presentaron un color café claro. Todo esto se debe al color del extracto en sí. Todos los geles presentaron diferentes colores sin forma de confundirse con alguno de ellos. En cuando al olor es característico a la quinua de todos los geles. El gel debe presentar un aspecto untuoso para que no exista ningún problema al aplicarse y así pueda ser absorbido por la piel.

En el cuadro N° 16, 17, y 18. Los parámetros físicos presentan conformidad con las especificaciones de la USP 28, los valores de pH obtenidos están dentro de las especificaciones establecidas. Por lo cual está dentro de un rango de 4 a 7, lo que es ligeramente ácido, por lo tanto, como la piel presenta un pH de 5-5,5 este favorece a

absorción del gel. Porque presenta afinidad a la pH de la piel. Además se realizó una prueba previa para determinar si el principio puro causaba irritabilidad en la piel o presentaba alguna manifestación no favorable. En cuanto a la prueba ningún extracto puro no causó daño a la piel ni presentó efectos secundarios.

Las especificaciones de la USP en cuanto a la extensibilidad de los geles es max. 4,5 cm. Los geles cumplen con este parámetro presentando una extensibilidad promedio de 3,65 cm estando dentro de los límites permisibles establecidos por la Farmacopea Norteamérica.

Todos los geles elaborados a partir de los diferentes extractos y a diferentes concentraciones cumplen con las especificaciones microbiológicas según la USP. Presentando ausencia en coliformes totales y parámetros conformes en aerobios mesófilos y hongos. Este es un parámetro muy importante en el control de calidad, debido a que no debe existir ningún tipo de materia extraña o microorganismos patógenos que puedan afectar la estabilidad del producto y la seguridad al paciente.

3.7. ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS GELES ETANÓLICOS, LIPÍDICOS Y DE SAPONINAS A PARTIR DE QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN

La actividad cicatrizante se evaluó en ratones *Mus musculus* cepa B ALB/C. Formando grupos de experimentación de 3 ratones cada uno aleatoriamente. A cada grupo se aplicando los geles de extractos lipídicos, etanólicos y saponinas de variedad Criolla Blanca y Tunkahuan correspondientemente, aplicando dos veces al día durante 15 días, previo una limpieza con suero fisiológico el área de la herida y tomando fotos cada día con una regla, para luego proceder aplicar el programa IMAGEJ, donde se mide en el área de la herida no cicatrizada. La herida fue medida el 1er día, 3er día, 5to día, 8vo día, 11vo día, 13vo día y 15vo día.

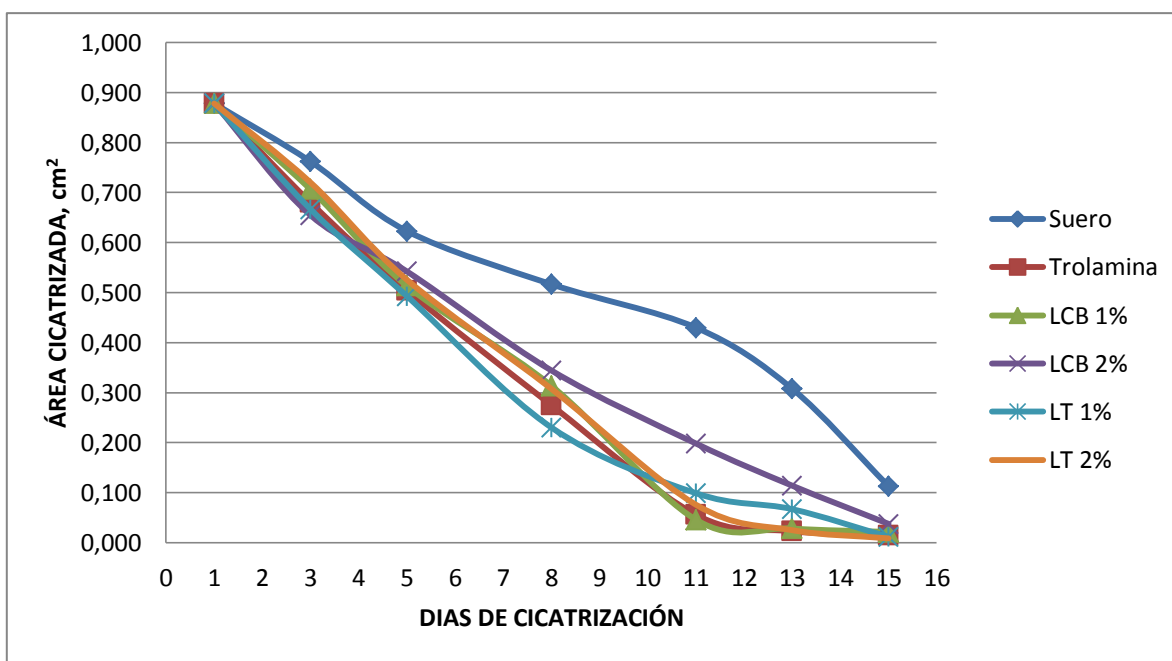
CUADRO N 19°: ÁREA CICATRIZADA DURANTE 15 DÍAS

Día	TRATAMIENTOS		LCB		LT		ECB		ET		SCB		ST	
	Suero	Trolamina	1%	2%	1%	2%	1%	2%	1%	2%	1%	2%	1%	2%
1	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878
3	0,762	0,680	0,706	0,655	0,667	0,720	0,747	0,820	0,680	0,759	0,742	0,760	0,693	0,744
5	0,623	0,504	0,513	0,542	0,493	0,526	0,533	0,714	0,525	0,617	0,667	0,624	0,488	0,583
8	0,517	0,275	0,314	0,344	0,230	0,308	0,293	0,637	0,416	0,461	0,494	0,514	0,358	0,433
11	0,430	0,056	0,046	0,198	0,099	0,076	0,094	0,246	0,199	0,165	0,151	0,190	0,130	0,157
13	0,308	0,023	0,028	0,114	0,067	0,025	0,050	0,158	0,106	0,106	0,082	0,094	0,083	0,067
15	0,113	0,015	0,022	0,038	0,012	0,009	0,022	0,065	0,050	0,057	0,016	0,028	0,022	0,043

AUTOR: VILLARREAL, A., 2014

Este cuadro indica el promedio del área de cada grupo experimental, como ha ido evolucionando el área cicatrizada durante el tiempo evaluado. El suero comenzó con una herida de 0,878 cm² durante los 15 días de aplicación de suero fisiológico alcanzo un área de 0,113 cm². La trolamina con una herida de 0,878 cm² durante los 15 días de aplicación un área de 0,015 cm². Los grupos experimentales de los extractos lipídicos variedad Criolla Blanca y Tunkahuan al 1 y 2% comenzaron con un área de 0,878 cm² alcanzando áreas de 0,022; 0,038; 0,012 y 0,009 cm² respectivamente. Para los grupos experimentales de los extractos etanólicos variedad Criolla Blanca y Tunkahuan al 1 y 2% comenzaron con un área de 0,878 cm² alcanzando áreas de 0,022; 0,065; 0,050 y 0,016 cm² respectivamente. Y por último para os grupos experimentales de los extractos saponinas variedad Criolla Blanca y Tunkahuan al 1 y 2% comenzaron con un área de 0,878 cm² alcanzando áreas de 0,016; 0,0328; 0,022 y 0,043 cm² respectivamente.

GRÁFICO N° 2: EVOLUCIÓN DE LA HERIDA DE LOS GELES CON EXTRACTOS LIPÍDICOS DE VARIEDAD CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUAN

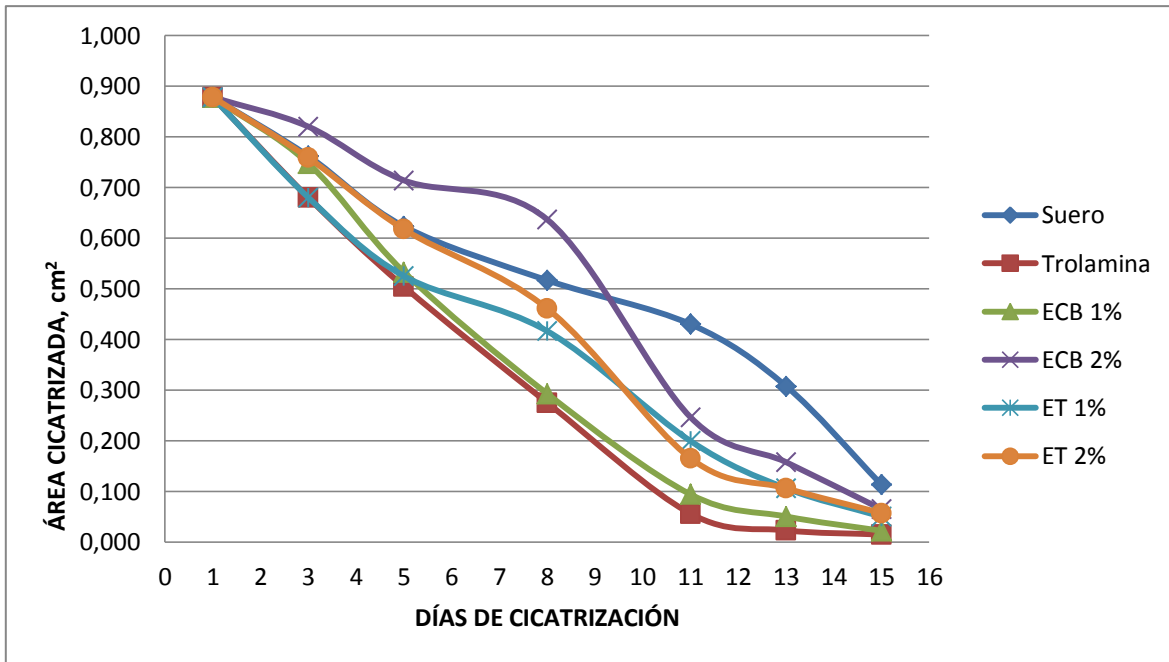


AUTOR: VILLARREAL, A., 2014

En el gráfico podemos observar como se evolucionó la herida desde el 1er día hasta el 15vo. Día los geles con los extractos lipídicos de la variedad Criolla Blanca y Tunkahuan en comparación con el grupo de suero fisiológico y trolamina.

Se puede observar que todos los grupos experimentales se comportan parecidos hasta el 5 día, de ahí para adelante cada gel toma diferente evolución en el proceso de cicatrización. Cabe recalcar que el suero es el único grupo experimental diferente en comparación con la Trolamina y los grupos experimentales. Llegando a un punto donde se vuelven a encontrar los grupos experimentales y dejando a un lado al suero que no se encuentran cerca del grupo control.

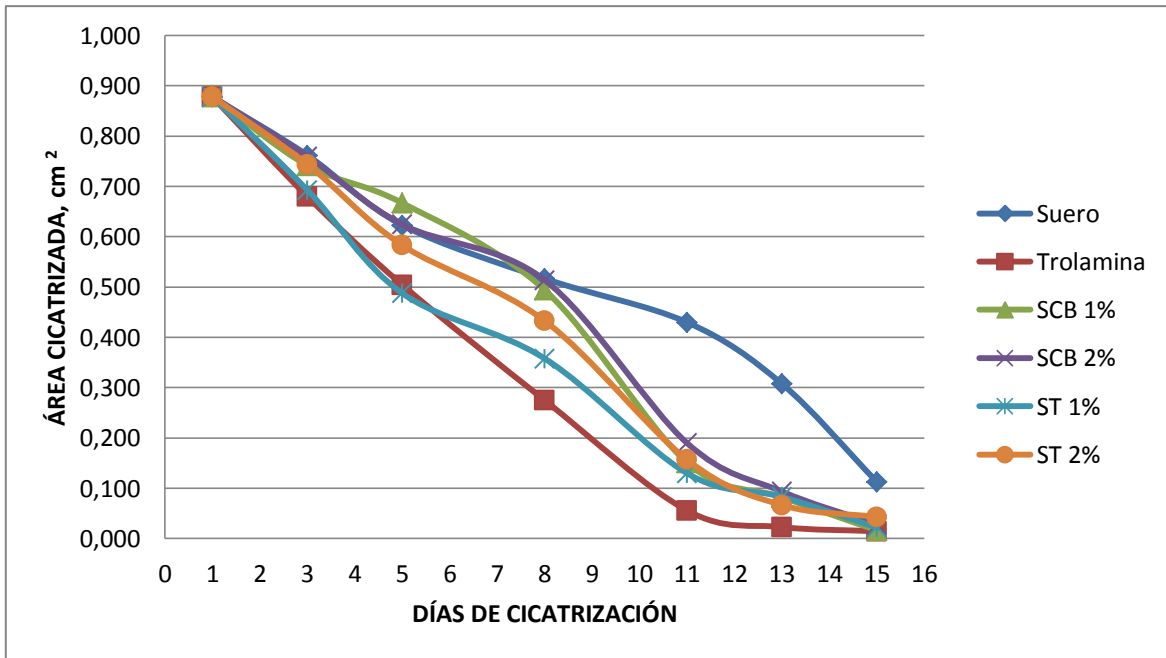
GRÁFICO N° 3 : EVOLUCIÓN DE LA HERIDA DE LOS GELES CON EXTRACTOS ETANÓLICOS DE VARIEDAD CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUA



AUTOR: VILLARREAL, A., 2014

En el grafico podemos observar cómo va evolucionando la herida, pero cada grupo experimental evoluciona de diferente forma. Aunque los grupos experimentales ECB 1%, ET 1% y la Trolamina se encuentran al 5to día con un área de cicatrización parecida, mientras que el ECB 1% con la Trolamina al 5to día evolucionan de forma similar manteniéndose hasta el 15 vo día. Quedando sobre estos los demás grupos experimentales.

GRÁFICO N°4: EVOLUCIÓN DE LA HERIDA DE LOS GELES CON EXTRACTOS SAPONINAS DE VARIEDAD CRIOLLA BLANCA Y TUNKAHUA



AUTOR: VILLARREAL, A., 2014

En el grafico podemos observar que la trolamina con el grupo experimental ST 1% presentan un mismo comportamiento hasta el 5to día, de ahí para adelante estos grupos evolucionan diferentes en cuanto al área cicatrizada, volviéndose a encontrar al 15 día en el mismo punto. En cuanto a los otros grupos experimentales de la misma forma evolucionan igual hasta el 3er día, y evolucionan de forma diferente hasta el 15 días encontrándose cerca del mismo punto que los otros grupos experimentales ya mencionados.

CUADRO N ° 20: ÁREA BAJO LA CURVA DE LOS TRATAMIENTOS DE LA SUPERFICIE NO CICATRIZADA A TÉRMINO DEL PERIODO DE ESTUDIO

SUERO	TROLAMINA	LCB 1%	LCB 2%	LT 1%	LT 2%	ECB 1%	ECB 2%	ET 1%	ET 2%	SCB 1%	SCB 2%	ST 1%	ST 2%
6,879	4,162	4,286	5,233	4,549	5,192	4,868	7,046	5,677	5,725	5,824	6,311	4,879	5,722
7,395	4,763	4,975	5,505	3,889	4,649	4,614	7,302	5,391	6,802	5,934	5,885	5,031	5,374
7,665	4,650	4,866	5,276	5,147	4,571	5,341	7,279	5,612	5,483	6,456	6,377	5,300	5,977

PROMEDIO	7,313	4,525	4,709	5,338	4,528	4,804	4,941	7,209	5,560	6,003	6,071	6,191	5,070	5,691
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0,399	0,319	0,370	0,147	0,630	0,338	0,369	0,142	0,150	0,702	0,337	0,267	0,213	0,303
RSD o %CV	5,4604	7,0594	7,8650	2,7447	13,9024	7,0441	7,4620	1,9687	2,6950	11,6912	5,5567	4,3139	4,1998	5,3196

CUADRO N° 21: ANALISIS ESTADISTICO ANOVA DE UN FACTOR

<i>Grupos</i>	<i>Número</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
SUERO				
FISIOLÓGICO	3	21,9385	7,312833333	0,15945108
TROLAMINA	3	13,5735	4,5245	0,102019
LCB 1%	3	14,127	4,709	0,137167
LCB 2%	3	16,013	5,337666667	0,02146258
LT 1%	3	13,584	4,528	0,39627075
LT 2%	3	14,4115	4,803833333	0,11450658
ECB 1%	3	14,8225	4,940833333	0,13592908
ECB 2%	3	21,6265	7,208833333	0,02014058
ET 1%	3	16,6795	5,559833333	0,02245108
ET 2%	3	18,0096	6,0032	0,49259107
SCB 1%	3	18,2135	6,071166667	0,11380908
SCB 2%	3	18,5715	6,1905	0,071316
ST 1%	3	15,2095	5,069833333	0,04533608
ST 2%	3	17,072	5,690666667	0,09163858

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	32,30657551	13	2,485121193	18,08217	2,90337E-10	2,088929347
Dentro de los grupos	3,84817714	28	0,137434898			
Total	36,15475265	41				

En este análisis estadístico nos planteamos dos hipótesis. La hipótesis nula que todos los grupos experimentales son iguales y la hipótesis alternativa que al menos un grupo experimental difiere de los otros. Por lo cual este análisis nos indica que el valor crítico para F es menor al F calculado, por lo cual si existe diferencia en alguno de los grupos. Por lo que se procede a realizar un Test post confirmatorio como en este caso el Test Dunnett's el cual es múltiples comparaciones frente al control.

CUADRO N° 22: TEST POST CONFIRMATORIO DUNNETT'S

Comparación	Diferencia Significativa	q'	P	P<0,050
TROLAMINA vs. SUERO	2,788	9,212	<0,001	Yes
TROLAMINA vs. ECB 2%	2,684	8,868	<0,001	Yes
TROLAMINA vs. SCB 2%	1,666	5,504	<0,001	Yes
TROLAMINA vs. SCB 1%	1,547	5,11	<0,001	Yes
TROLAMINA vs. ET 2%	1,479	4,885	<0,001	Yes
TROLAMINA vs. ST 2%	1,166	3,853	0,006	Yes
TROLAMINA vs. ET 1%	1,035	3,42	0,018	Yes
TROLAMINA vs. LCB 2%	0,813	2,686	0,096	No
TROLAMINA vs. ST 1%	0,545	1,802	0,462	Do Not Test
TROLAMINA vs. ECB 1%	0,416	1,375	0,76	Do Not Test
TROLAMINA vs. LT 2%	0,279	0,923	0,972	Do Not Test
TROLAMINA vs. LCB 1%	0,184	0,61	0,999	Do Not Test
TROLAMINA vs. LT 1%	0,0035	0,0116	1	Do Not Test

Este análisis estadístico post confirmatorio nos indica que los grupos experimentales LCB 2%, ST 1%, ECB 1%, LT 2%, LCB 1% y LT 1% no tienen diferencia significativa frente al control positivo en este caso la Trolamina. Pero el que mayor actividad cicatrizante presenta es el grupo experimental LT 2% frente a la trolamina. Porque presenta una diferencia significativa muy baja. Esta diferencia frente al grupo control es 0,0035.

El gel lipídico Quinoa Tunkahuan 2% presentó mayor actividad partiendo de 0,878 cm² hasta alcanzar un área de 0,012 cm².

La actividad cicatrizante del gel lipídico Tunkahuan 2% se debe a la presencia de ácidos esenciales como ácido Linoléico, ácido linolénico y ácido Oleico y fitoesteroles que participan en el proceso de la cicatrización facilitando la regeneración de la herida. Actuando a nivel de producción de síntesis de colágeno, estimulando la producción de citosinas y aumentando la cohesión celular. Además los fitoesteroles presentan actividad antiinflamatoria. (MARTÍNEZ y PARERAS, 2009) (Martínez Cuervo & Pareras Galofré, 2009)

El gel con extracto de saponinas de Quinoa Criolla Blanca también presentó una buena actividad cicatrizante esto se debe a que actúan estimulando la acción de los fibroblastos para

el efecto reepitelizante, además de estimular la producción de colágeno y evitando que se forme cicatriz hipertrofia. También favorecen al proceso del crecimiento de vasos sanguíneos.(PROSOPIO y VALDIVIA, 2011)

CUADRO N°23: TEST POST CONFIRMATORIO TUKEY

Comparison	Diff of Means	p	Q	P	P<0,050
SUERO FISIOLÓGICO vs. ECB 2%	0,104	14	0,486	1	No
SCB 2% vs. LCB 2%	0,853	14	3,985	0,272	No
SCB 2% vs. ET 1%	0,631	14	2,947	0,706	Do Not Test
SCB 2% vs. ST 2%	0,5	14	2,335	0,916	Do Not Test
SCB 2% vs. ET 2%	0,187	14	0,875	1	Do Not Test
SCB 2% vs. SCB 1%	0,119	14	0,558	1	Do Not Test
SCB 1% vs. ST 1%	1,001	14	4,678	0,107	No
SCB 1% vs. LCB 2%	0,734	14	3,427	0,489	Do Not Test
SCB 1% vs. ET 1%	0,511	14	2,389	0,903	Do Not Test
SCB 1% vs. ST 2%	0,381	14	1,778	0,989	Do Not Test
SCB 1% vs. ET 2%	0,068	14	0,318	1	Do Not Test
ET 2% vs. ECB 1%	1,062	14	4,963	0,07	No
ET 2% vs. ST 1%	0,933	14	4,361	0,168	Do Not Test
ET 2% vs. LCB 2%	0,666	14	3,109	0,633	Do Not Test
ET 2% vs. ET 1%	0,443	14	2,071	0,963	Do Not Test
ET 2% vs. ST 2%	0,313	14	1,46	0,998	Do Not Test
ST 2% vs. LCB 1%	0,982	14	4,586	0,123	No
ST 2% vs. LT 2%	0,887	14	4,143	0,223	Do Not Test
ST 2% vs. ECB 1%	0,75	14	3,503	0,456	Do Not Test
ST 2% vs. ST 1%	0,621	14	2,901	0,725	Do Not Test
ST 2% vs. LCB 2%	0,353	14	1,649	0,994	Do Not Test
ST 2% vs. ET 1%	0,131	14	0,611	1	Do Not Test
ET 1% vs. TROLAMINA	1,035	14	4,837	0,085	No
ET 1% vs. LT 1%	1,032	14	4,821	0,087	Do Not Test
ET 1% vs. LCB 1%	0,851	14	3,975	0,275	Do Not Test
ET 1% vs. LT 2%	0,756	14	3,532	0,443	Do Not Test
ET 1% vs. ECB 1%	0,619	14	2,892	0,729	Do Not Test
ET 1% vs. ST 1%	0,49	14	2,289	0,926	Do Not Test
ET 1% vs. LCB 2%	0,222	14	1,038	1	Do Not Test

AUTOR: VILLARREAL, A.,2014

CUADRO N° 23: TEST POST CONFIRMATORIO TUKEY (Continuación)

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
LCB 2% vs. TROLAMINA	0,813	14	3,799	0,336	Do Not Test
LCB 2% vs. LT 1%	0,81	14	3,783	0,342	Do Not Test
LCB 2% vs. LCB 1%	0,629	14	2,937	0,71	Do Not Test
LCB 2% vs. LT 2%	0,534	14	2,494	0,874	Do Not Test
LCB 2% vs. ECB 1%	0,397	14	1,854	0,985	Do Not Test
LCB 2% vs. ST 1%	0,268	14	1,251	1	Do Not Test
ST 1% vs. TROLAMINA	0,545	14	2,548	0,858	Do Not Test
ST 1% vs. LT 1%	0,542	14	2,531	0,863	Do Not Test
ST 1% vs. LCB 1%	0,361	14	1,686	0,993	Do Not Test
ST 1% vs. LT 2%	0,266	14	1,243	1	Do Not Test
ST 1% vs. ECB 1%	0,129	14	0,603	1	Do Not Test
ECB 1% vs. TROLAMINA	0,416	14	1,945	0,977	Do Not Test
ECB 1% vs. LT 1%	0,413	14	1,929	0,979	Do Not Test
ECB 1% vs. LCB 1%	0,232	14	1,083	1	Do Not Test
ECB 1% vs. LT 2%	0,137	14	0,64	1	Do Not Test
LT 2% vs. TROLAMINA	0,279	14	1,305	0,999	Do Not Test
LT 2% vs. LT 1%	0,276	14	1,289	1	Do Not Test
LT 2% vs. LCB 1%	0,0948	14	0,443	1	Do Not Test
LCB 1% vs. TROLAMINA	0,184	14	0,862	1	Do Not Test
LCB 1% vs. LT 1%	0,181	14	0,846	1	Do Not Test
LT 1% vs. TROLAMINA	0,0035	14	0,0164	1	Do Not Test

AUTOR: VILLARREAL, A., 2014

Este test estadístico nos indica una comparación entre todos los grupos experimentales, en el cuadro se puede observar que grupos control tienen diferencia significativa uno con otro.

2.8. EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA

En los cortes histopatológicos se evaluó diferentes parámetros como:

- Polimorfos nucleares
- Linfocitos

- Reepitelización
- Fibras de colágeno
- Neovascularización
- Folículos pilosos.

Estos parámetros fueron evaluados considerando que son factores importantes en la regeneración del tejido. Estos resultados fueron observados con Microscopio óptico 10 x. Se evaluaron en dos fases a los 15 días y 21 días.

CUADRO N° 24: EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA A LOS 15 Y 21 DÍAS DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DEL GEL

Código	Polimorfos nucleares		Linfocitos		Reepitelización		Fibras de Colágeno		Neovascularización	
	D 15	D 21	D 15	D 21	D 15	D 21	D 15	D 21	D 15	D 21
E.LIP.CB1	-	-	-	-	+++	+++	+	+++	-	-
E.LIP.CB2	+	-	+	-	+++	+++	+++	+++	-	+
E.LIP.TUN 1	+	-	+	-	+++	+++	+++	+++	++	++
E.LIP.TUN2	+	-	++	-	+++	+++	+++	+++	++	++
E.ETA. CB1	-	-	+	-	+++	+++	+++	+++	++	++
E.ETA. CB2	+	-	++	-	+++	+++	+++	+++	+	+
E.ETA.TUN 1	+	-	+	-	+++	+++	++	+++	+	+
E.ETA.TUN2	-	-	+	-	+++	+++	+++	+++	-	++
E.SAP.CB1	+	-	+	-	+++	+++	++	+++	+	+
E.SAP.CB2	+	-	+	-	+++	+++	+++	+++	+	+
E.SAP.TUN1	+	-	+	-	+++	+++	+++	+++	+	+
E.SAP.TUN2	-	-	+	-	+++	+++	+++	+++	+	+
TROLAMINA	++	+	+	-	+++	+++	+++	+++	+	+++
SUERO	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++

(Villarreal, A., 2014)

Interpretación:

- Abundante: +++
- Moderado: ++
- Escaso: +
- Negativo: -

Los geles de los extractos etanólicos, lipídicos y saponinas de las dos variedades de Quinoa y a las dos concentraciones presentan abundante reepitelización y fibras de colágeno. Es decir el tejido ha ya está regenerándose, el colágeno es un componente importante en la regeneración del tejido.

Mientras que la neovascularización está presente de forma abundante en los extractos lipídicos de quinua tunkahuan, para los demás geles presentan solo escasez, este parámetro es muy importante porque permite el transporte de células y nutrición del tejido. Así como promueve la migración o mitosis endoteliales.

La evaluación de los cortes a los 21 días no hay presencia de polimorfos nucleares y linfocitos porque estos aparecen durante los 3-4 días después de la herida como respuesta para combatir agentes extraños. En este periodo favorece el proceso de cicatrización.

4. CONCLUSIONES

1. El análisis fitoquímico para la Quinoa Criolla Blanca y Quinoa Tunkahuan determinó la presencia de metabolitos como Flavonoides, Saponinas, Aceites Grasos y Taninos de gran interés farmacológico para esta investigación, ya que estos pueden favorecer el proceso de cicatrización.
2. Los extractos lipídicos, etanólicos y de saponinas de Quinoa Criolla Blanca y Tunkahuan no presentaron mortalidad a ninguna de las concentraciones evaluadas. Por lo cual es considerado no tóxico.
3. El Control de calidad realizado a los geles de Quinoa Criolla Blanca y Quinoa tunkahuan al 1% y 2% cumplen con las especificaciones tanto físicas como microbiológicas de la Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica - USP 28 y 35 Por lo tanto este es un fitofármaco inocuo y seguro con gran eficacia para el proceso de cicatrización de heridas.
4. La actividad cicatrizante de los geles se evaluó, a través de la medición de la disminución del área de la herida, durante los días evaluados.
5. Mediante la aplicación del test estadístico ANOVA DE UN FACTOR Y TEST DE DUNNETT'S demostró que el gel elaborado con extracto lipídico de Quinoa Tunkahuan al 1% presentó mejor actividad cicatrizante con respecto a los demás geles y al control positivo. Pero los geles elaborados a partir de extracto de saponinas de Quinoa Tunkahuan 1%, el extracto lipídico Quinoa Tunkahuan 2% y el extracto lipídico de Quinoa Criolla Blanca 1 y 2% también presentan una actividad cicatrizante considerable. Por lo cual son de gran interés.

6. Los geles elaborados a partir de los extractos etanólicos lipídicos y saponinas de las dos variedades de quinua presentaron abundantes fibras de colágeno, neovascularización y reepitelización parámetros importantes para el proceso de regeneración epitelial.

5. RECOMENTACIONES

- Realizar el ensayo de *Artemia salina* con un mayor número de concentraciones y repeticiones del mismo, con el fin de obtener intervalos de seguridad más estrechos, para tener un valor más preciso de la concentración letal 50.
- Realizar estudios de estabilidad del producto para conocer su comportamiento a largo plazo.
- Plantear nuevas investigaciones para buscar posibles actividades farmacológicas en la Quinoa y otros granos Andinos debido a que no existe mucha información acerca de las propiedades Farmacoterapéutico de los mismos.
- Realizar un gel con los diferentes extractos en mezcla en proporciones iguales, y evaluar si existe sinergismos o antagonismo entre ellos, y si mejoran el tiempo de cicatrización.
- Evaluar el efecto farmacológico a base de los extractos etanólicos, lipídicos y saponinas de la Quinoa en pacientes: pie diabético y quemaduras de 1 er. Grado.

BIBLIOGRAFÍA

ACERO DE MESA, N., y LINARES, F. Principios Activos de los Metabolitos. En: E. Castillo, & I. Martínez, Manual de Fitoterapia. Barcelona- España. Mansson. 2007, pp. 25-26.
https://www.google.com/search?hl=es&tbo=p&tbm=bks&q=isbn:8445817973&gws_rd=ssl
2013/11/10

AHUMADA, J., et.al. Farmacología Practica para las diplomaturas en Ciencias de Salud. Madrid - España. Díaz de Santos. 2002, pp. 404-308
https://www.google.es/search?hl=es&tbo=p&tbm=bks&q=isbn:8479785330&gws_rd=ssl
2013/10/29

ANAYA, A. Ecología Química. Mexico D.F. – Mexico. Plaza y Valdez. 2003, pp. 53-59
https://www.google.es/search?hl=es&tbo=p&tbm=bks&q=isbn:9707221135&gws_rd=ssl
2013/10/25

AVELLO, M., y CISTERNAS, I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. (Revista Medica de Chile). Vol. 138, N°.10. Chile, Octubre de 2010, pp. 1288-1293.
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872010001100014
2014/05/08

BARBUL, A., & EFRON, D. Cicatrización de heridas. En: BRUNICARDI, C. Schwartz Principios de Cirugía. 9ª ed., Mexico. Mc Graw- Hill Interamericana. 2011, pp. 210-215

BIOVERSITY INTERNATIONAL, FAO, PROINPA, INIAF Y FIDA. (Informe). Descriptores para quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. Bioversity International. Roma – Italia. Julio de 2013, pp. 3-51.
<http://www.fao.org/docrep/018/aq658s/aq658s.pdf>
2013/10/15

GRAF, B., et.al. Quinoa seeds leach phytoecdysteroids and other compounds. (Revista *Food Chemistry*). N° 163. Mayo de 2014, USA, pp. 178–185

BRUNETON, J. Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas Medicinales. 2ª ed., Zaragoza-España. Acribia. 1993, pp. 50-62

CAÑIGUERAL, S. La Fitoterapia ¿una terapéutica para el tercer milenio?. (Revista de Fitoterapia). Vol. 2. N°. 2. Septiembre de 2002, España, pp. 101-121.

http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF2_2_FITOTERAPIA.pdf

2014/05/23

CAÑIGUERAL, S. Fitoterapia Vademecum de Prescripción. (Revista de Fitoterapia). Vol. 3. N°. 2. Julio de 2003, España, pp. 161-165

http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF3_2_VADEMECUM.pdf

2014/05/06

CIARLOTTI, F. Ayurveda y Rejuvenecimiento. Buenos Aires-Argentina. Lea. 2013, pp. 240-245

https://www.google.es/search?hl=es&tbo=p&tbn=bks&q=isbn:9876347403&gws_rd=ssl

2013/11/08

COLE, P., HELLE, L., et.al. La piel y tejido subcutáneo. En: BRUNICARDI, C., Schwartz Principios de Cirugía. 9ª ed., Mexico. Mc Graw Hill Interamericana. 2011, pp. 406-409.

CORTES,D., et. al. Los Principios Activos de Las Plantas Medicinales. En: BANACLOCHA, B. Y CAÑIGUERAL, S. Fitoterapia Vademecum Prescripción. 4ª ed., Barcelona- España. Masson. 2003, pp. 28-29.

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

<http://www.puce.edu.ec/portal/wr-resource/blobs/1/PUB-QCA-PUCE-2008-Enciclopedia.pdf>
2013/10/29

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

ECUADOR, INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA - INIAP. (Sitio web). 2011.

http://www.iniap.gob.ec/nsite/index.php?option=com_content&view=article&id=36&Itemid=15

2013/11/26

FALABELLA, R. et. al. Dermatología. 6ª ed., Medellín-Colombia. Corporación para Investigaciones Biológicas. 2002, pp. 25-32

FERRANDÍZ, C. Dermatología Clínica. 3ª ed., Barcelona - España. Elseiver. 2001, pp. 1-11

<http://books.google.es/books?id=YN05m5quZpYC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

2014/02/05

GARCÍA, M., & CASTELLANOS. Evaluación del efecto sanitizante de un extracto biodegradable obtenido de la especie *Solanum marginatum* de uso etnobotánico en Boyacán. (Revista Luna Azul). N°.32. Enero – Junio 2011, Colombia, pp. 45-39.

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321727234002>

2014/02/08

GARCÍA, M., et. al. Auxiliar de Enfermería. Sevilla-España. Mad. 2006, pp. 95, 97

GISPERT, C. Enciclopedia Práctica de la Agricultura y la Ganadería. Barcelona-España. Grupo Océano. 2009. pp. 337-338

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

HERNANDEZ, A. Fitoterapia Bases científicas y legales para su aplicación. (Revista Boletín Latinoamericano y del Caribe de las Plantas Medicinales y Aromáticas), Vol. 4, N°.4. Mayo de 2005, Chile, pp. 71-74.

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85640404>

2014/03/09

INSTITUTO CATALÁN DE LA SALUD. ATS/di de Atención Especializada del Instituto catalán de la salud. 4ª ed., España – Madrid. Mad. 2005, pp.325-327

http://books.google.com.ec/books/about/ATS_di_de_Atenci%C3%B3n_Especializada_del_In.html?id=4kfSkaa5YgoC

2014/01/28

JACOBSEN, S., y SHERWOOD, S. Cultivo de granos andinos en Ecuador: informe sobre los rubros quinua, chocho y amaranto. Quito-Ecuador. Abaya- Yala. 2002, pp. 13,21; 39-42
http://books.google.com.ec/books?id=s73gc3GcptcC&printsec=frontcover&hl=es&source=gb_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

2014/03/01

LEONG, M., & PHILLIPS, L. G. Cicatrización de las heridas. En: TOWNSEND, C., Sabiston Tratado de Cirugía. 19ª ed., Barcelona-España. Elsevier Saunders. 2013, pp. 151-175

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

MADL, T., y et. al. Tandem Mass Spectrometric Analysis of a Complex Triterpene Saponin Mixture of Chenopodium quinoa. (*J Am Soc Mass Spectrom*). N°. 17. 20 de febrero 2006. Graz- Austria, pp. 795–806

MARCANO, D., y HASEGAWA, M. Fitoquímica Orgánica. 2ª ed., Caracas - Venezuela. Publicaciones del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela. 2002, pp. 29, 137; 361-367
<http://books.google.es/books?id=hPkjgPwXDQC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

2014/03/05

MARTÍNEZ CUERVO, F., y PARERAS GALOFRÉ, E. La efectividad de los ácidos grasos hiperoxigenados en el cuidado de la piel perilesional, la prevención de las úlceras por

presión, vasculares y de pie diabético. (Gerokomos). Vol. 20. Marzo de 2009. Madrid, pp. 41-46

http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1134-928X2009000100006&script=sci_arttext

2014/11/03

MARTÍNEZ, J., et al. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. (Latindex). Vol. 6, N°. 6. Chile, 2005, pp. 70-74.

http://www.uv.es/prietojm/Old%20Blacpma/old%20blacpma%20archive/BLACPMA_V6_N6.pdf

2014/01/25

MARTINEZ, M. Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia. Habana – Cuba. Pueblo y Educación. 1986, pp. 10-15

MÉNDEZ, M., et al. Efecto cicatrizante de la pomada preparada con *Dorstenia drakena* L. (Moraceae) en heridas cutáneas. (Cirujano General). Vol. 8. 20 de Noviembre de 2008, Mexico D.F. - Mexico. pp. 204-210.

<http://www.medigraphic.com/pdfs/cirgen/cg-2008/cg084e.pdf>

2014/02/11

MUJICA, A., et al. ORIGEN Y DESCRIPCION DE LA QUINUA. Bolivia. FAO, Informe Técnico N° 62, Julio 2011, pp. 3-15

http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo_quinua_es.pdf

2013/11/04

NIETO, C., PERALTA, E., & CASTILLO, R. INIAP IMBAYA E INIAP COCHASQUI. Instituto Nacional de Investigación Agropecuarias - INIAP. Boletín Divulgativo N° 187, Agosto de 1986, pp. 1-10

Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC Official Method 920.39, Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed. 15^a ed.. Gaithersburg - Estados Unidos de América. AOAC International. 1990, pp. 25

<http://mb-labs.com/docs/chemistry-testing/AOAC%20Fat.pdf>

2014/01/24

OLEAS, J., & JÁCOME, H. Producción de medicamentos Genéricos para Exportación. (Boletín Mensual de Análisis Sectorial del MIPYMES). FLACSO ECUADOR - MIPRO. Ecuador. 2011, pp. 27-29

<https://www.flacso.edu.ec/portal/pnTemp/PageMaster/s6vbaqytnbmj5yec4c57yz83byz62.pdf>

2013/10/10

ORTUÑO, M. F. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Madrid - España. Aiyana. 2006, pp. 45,57

<http://es.slideshare.net/suministroempresarialmaysun/manual-prctico-de-aceites-esenciales-aromas-y-perfumes>

2014/01/17

PÁSTOR, G., et al. Effect of processing on the content of fatty acids, tocopherols and sterols in the oils of quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild), lupine (*Lupinus mutabilis* Sweet), amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) and sangorache (*Amaranthus quitensis* L.). (Global Advance Research Journals). Vol. 2, N° 4. Diciembre de 2013, Ecuador, pp. 44-53.

PERALTA, E. La Quinoa en el Ecuador "Estado del Arte". Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria - INIAP. Boletín Divulgativo N° 175, Noviembre de 2009, pp. 1-20

<http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/ESTADO%20DEL%20ARTE%20QUINUA%202.pdf>

2013/11/23

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

PROSOPIO, D., y TORRES, J. Efecto del Aloe Vera en la cicatrización de lesiones Gingivales. (Científica). Vol. 8. Noviembre de 2011, Lima - Perú, pp. 98-103.

[http://cientifica.edu.pe/data/archivos/Investigaciones/Efecto del aloe vera en la cicatrizacion de lesiones gingivales.pdf](http://cientifica.edu.pe/data/archivos/Investigaciones/Efecto%20del%20aloe%20vera%20en%20la%20cicatrizacion%20de%20lesiones%20gingivales.pdf)

2014/06/09

RASSNER, G. Manual y Atlas de Dermatología. 5ª ed., Madrid-España. Harcourt. 1999, pp. 21-27

ROSS, M., y WOJCIECH, P. Histología Texto y Atlas de Color con Biología Celular y Molecular. 5ª ed., Madrid-España. Médica Panamericana. 2007, pp. 2-5

<http://books.google.com.ec/books?id=NxYmIRZQi2oC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

2014/11/18

TAIZ, L., y ZEIGER, E. Fisiología Vegetal. Castelló – España. Castelló de la Plana: Universitat Jaume. 2006, pp. 700-702

<http://books.google.es/books?id=1PRucJTUVrQC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

2014/02/21

TAPIA, M., et. al. La Quinoa y la Kañiwa. Lima – Perú. Iica. 1979, pp. 32-41

TROTT, A. Heridas y Cortes. 3ª ed., Madrid-España. Elsevier. 2007, pp. 14-31

VILLACRES, E., CUADRADO, L., & FALCONÍ, F. Los Granos Andinos: Chocho chocho (Lupinus mutabilis Sweet), Quinoa (Chenopodium quinoa Willd), Amaranto (Amaranthus caudatus L.) y Sangorache (Amaranthus hybridus L.). (Boletín Técnico Nro. 165), Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias y Universidad Nacional de Chimborazo, Departamento de Nutrición y Calidad- INIAP y Facultad de Ciencias de la Salud- UNACH, Quito. 2013, pp. 4,6,12

VILLACRÉS, E., y PERALTA, E., EGAS, L. Potencial Agroindustrial de la Quinoa. Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias – INIAP. Boletín Divulgativo N°. 146, Abril de 2011, pp. 5-10

WAGNER, H. Futuro en la Investigación en Fitoterapia: Tendencia y Retos. (Revista de Fitoterapia). Vol. 6, N°. 2. Abril de 2006, España, pp. 101-117.

http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF_6-2_wagner.pdf

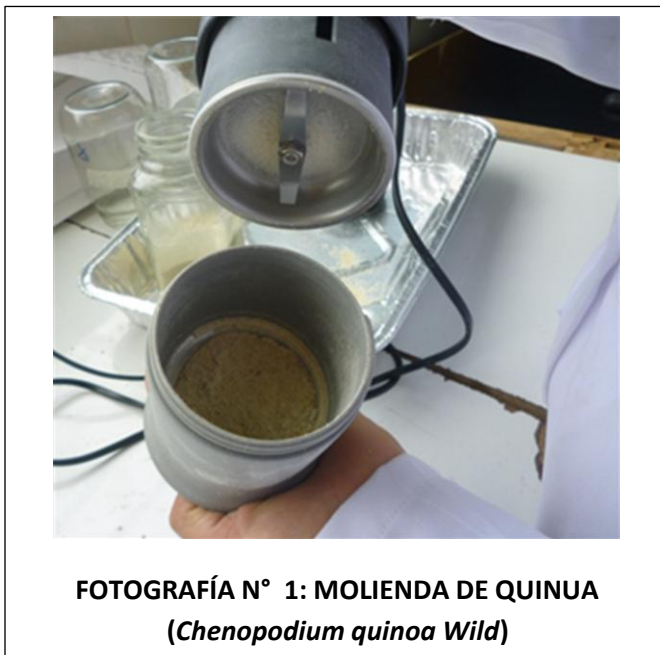
2014/04/07

WILSON, J., y MOORE, R. Cosmetología de Harry. Madrid - España. Díaz de Santos. 1990, pp. 3-18

WOLF, G. Desarrollo y estructura de la Piel. 7ª ed., Madrid – España. Médica Panamericana. 2009, pp. 57-67

ANEXOS

ANEXO 1: OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO



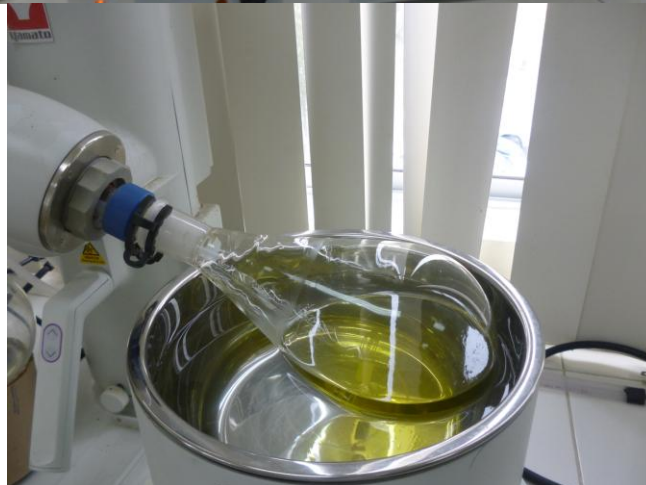
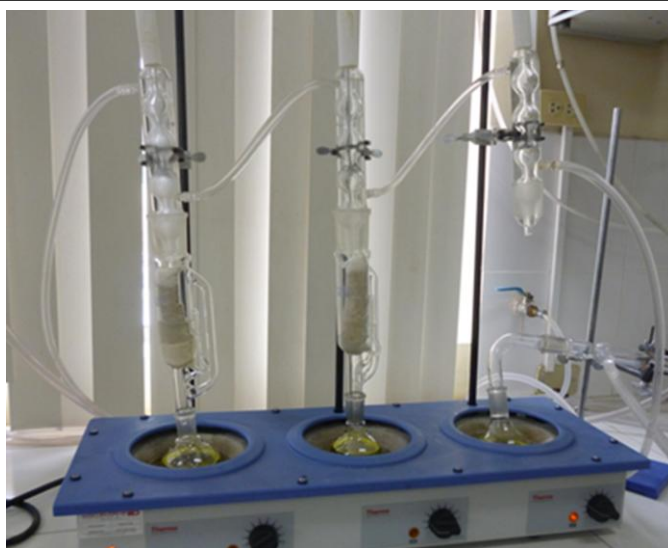


FOTOGRAFÍA N° 3: CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN

ANEXO N° 2: OBTENCIÓN DEL EXTRACTO LIPÍDICO



FOTOGRAFÍA N° 4: MACERACIÓN CON HEXANO PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS LIPÍDICOS

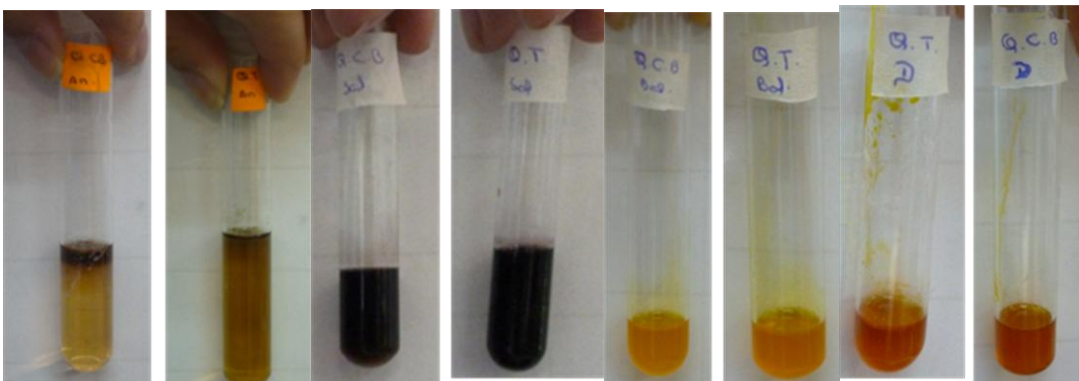
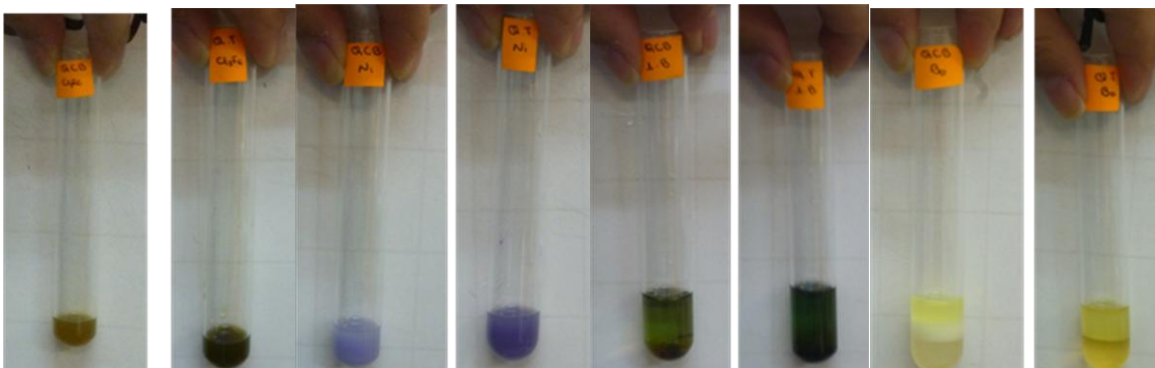


FOTOGRAFÍA N°5: MÉTODO SOXHLET Y CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO LIPÍDICO DE LAS DOS VARIIDADES DE QUINUA

ANEXO N° 3: OBTENCION DE SAPONINAS



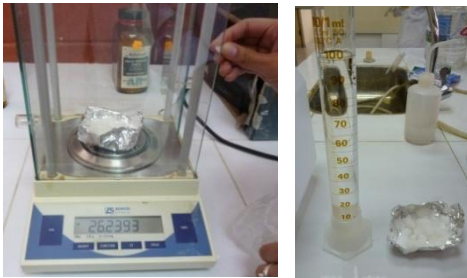
ANEXO N° 4: ANÁLISIS FITOQUÍMICO



ANEXO N° 5: DIAGRAMA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL EN *Artemia salina* PARA DOS VARIEDADES DE QUINUA: QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN

DÍA 1

PREPARAR AGUA DE MAR



UTILIZAR LEVADURA COMO ALIMENTO



PESAR 50 mg DE HUEVOS DE Artemia



COLOCAR UNA BOMBA DE OXÍGENO Y UNA LÁMPARA COMO LUZ



COLOCAR EL AGUA DE MAR Y LOS HUEVOS DE ARTEMIA SALINA



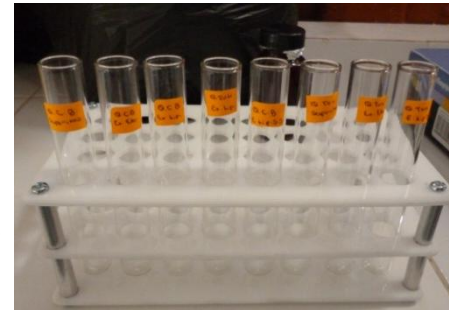
DIA 2



TRANSFERIR NAUPLIOS VIVOS CON AGUA DE MAR



PESAR 20 mg DE CADA EXTRACTO ANALIZAR EN TUBOS DE ENSAYO.



DIA 3



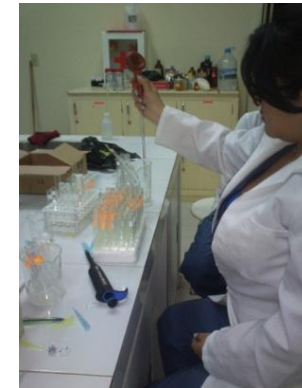
DISOLVER 20 mg DE LA MUETSRA + 2 mL DE DISOLVENTE

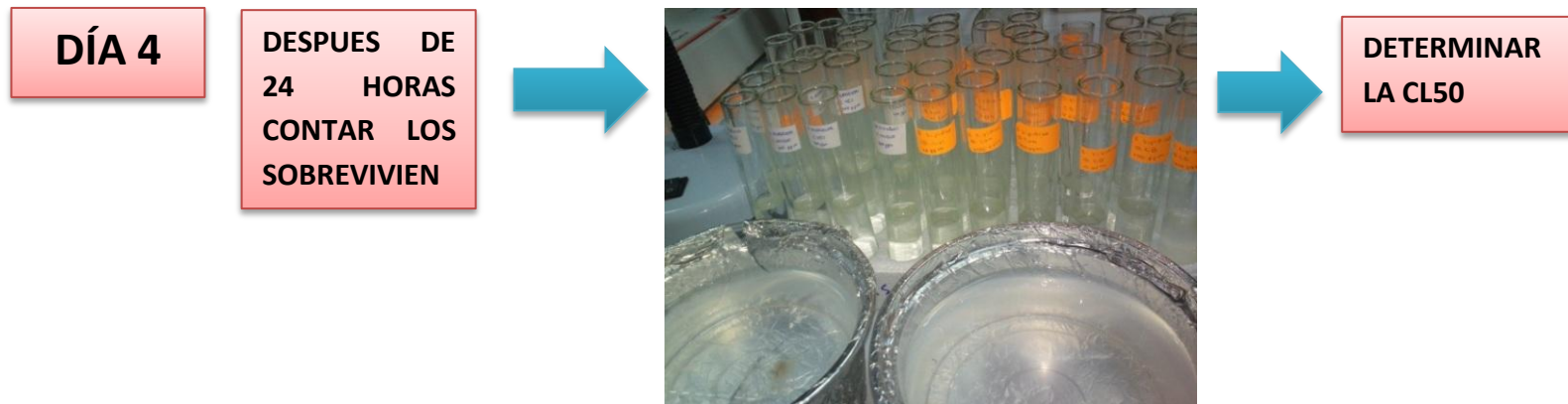


DISOLUCIONES DE 1000, 100, 10 ppm DE LA SOL. MADRE



TRANSFERIR 10 NAUPLIOS A CADA DILUCIÓN AGREGAR AGUA DE MAR Y ALIMENTO





ANEXO N° 6: CLASIFICACIÓN DE LOS TOXICOS EN EL MÉTODO DE TOXICIDAD AGUDA EN *Artemia salina*.

CONCENTRACIÓN (ppm)	CLASIFICACIÓN
CL ₅₀ < 10	Extremadamente tóxico
10 < CL ₅₀ < 100	Muy tóxico
100 < CL ₅₀ < 1000	Moderadamente tóxico
CL ₅₀ > 1000	No tóxico

ANEXO 7: DIAGRAMA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL EN RATONES (*Mus musculus*)

SEPARAR 13 RATONES



PESAR A LOS RATONES

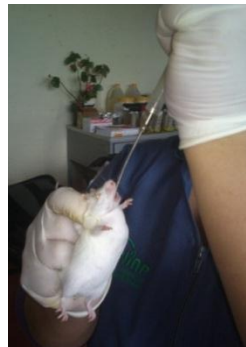


CALCULAR LOS mL ADMINISTRAR.

Calculos DL50 Ex. Etanólico Criolla Blanca

codigo de los animale	peso (g)	conc. Sin 1 (g/mL)	dosis prueba (mg/kg)	mg. del extracto	g. del extracto	mL teoricos	mL administ rados
1. M102	36,8	0,15	5000	184	0,18	1,2267	1,2
2. M110	36,8	0,15	5000	184	0,18	1,22667	1,2
3. M109	36,6	0,15	5000	183	0,18	1,22000	1,2
4. M219	35,1	0,15	2500	87,75	0,09	0,58500	0,6
5. M302	33,9	0,15	2500	84,75	0,08	0,56500	0,6
6. M301	33,5	0,15	2500	83,75	0,08	0,55833	0,6
7. M1*	33,3	0,15	1250	41,625	0,04	0,27750	0,3
8. M303	33	0,15	1250	41,25	0,04	0,27500	0,3
9. M101	32,3	0,15	1250	40,375	0,04	0,26917	0,3
10. M304	31,7	0,15	625	19,8125	0,02	0,13208	0,1
11. M203	31,1	0,15	625	19,4375	0,02	0,12958	0,1
12. M106	30,6	0,15	625	19,125	0,02	0,12750	0,1
						V. Final	6,6

ADMINISTRAR



LUBRICAR LA CÁNULA CON VASELINA



PREPARAR LA SOLUCIÓN



EVALUAR SEGÚN LAS PAUTAS DE OBSERVACIÓN Y PESO

ANEXO N° 8: PAUTAS DE OBSERVACIÓN DE LA DL50

PAUTAS DE OBSERVACIÓN

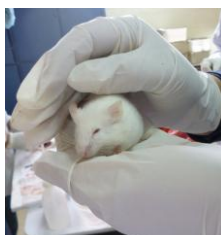
TIPO DE ANALISIS: _____ CONCENTRACIÓN : _____
 ANIMAL N°: _____ DOSIS: _____
 SEXO DEL ANIMAL: _____ mL TEORICOS: _____
 PESO DEL ANIMAL: _____ mL ADMINISTRADOS: _____
 EXTRACTO ANALIZADO: _____ HORA DE ADMINISTRACIÓN: _____
 FECHA DE ANÁLISIS _____ ANALISTA: _____

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

ANEXO N° 9: PARÁMETROS EVALUADOS EN LAS PAUTAS DE OBSERVACIÓN



**FOTOGRAFÍA N° 7: DISMINUCIÓN
DE LA ACTIVIDAD MOTORA**



**FOTOGRAFÍA N° 8:
PASIVO**



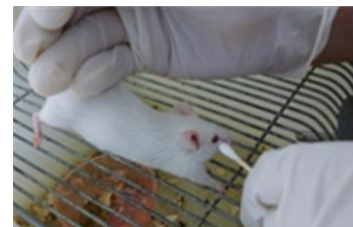
**FOTOGRAFÍA N° 9:
ACTIVIDAD PRENSIL**



**FOTOGRAFÍA N° 10:
ERECCIÓN DE LA COLA**



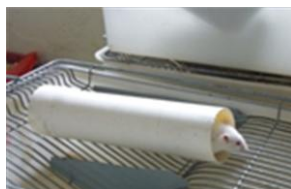
**FOTOGRAFÍA N° 11:
EQUILIBRIO**



**FOTOGRAFÍA N° 12:
REFLEJO CORNEAL**



**FOTOGRAFÍA N° 13:
ERECCIÓN DEL PILO**



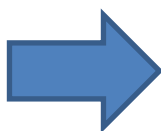
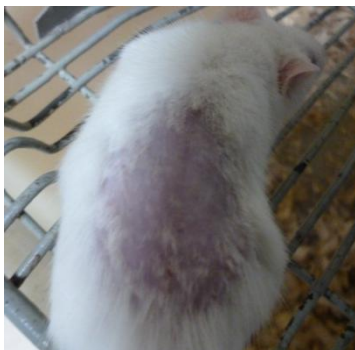
**FOTOGRAFÍA N° 14: TEST
DE CHIMENEA**



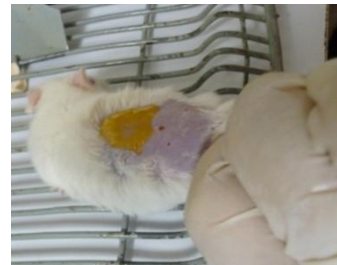
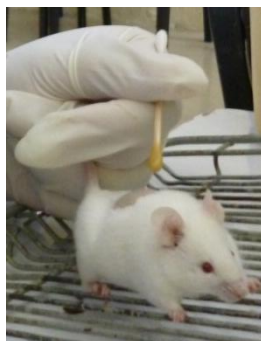
**FOTOGRAFÍA N° 15:
MORTALIDAD**

ANEXO N° 10: ENSAYO DE IRRITABILIDAD

DEPILACIÓN
DEL LOMO



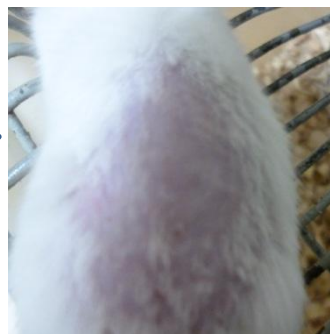
APLICACIÓN DEL
EXTRACTO



6 h DESPUÉS OTRA
APLICACIÓN



EVALUAR PRESENCIA
DE ENROJECIMIENTO



ANEXO N° 11: FORMULACIÓN DE LOS GELES A BASE DE QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAGUAN A PARTIR DE EXTRACTOS LIPÍDICOS, ETANÓLICOS Y DE SAPONINAS.

Geles lipídicos 1%	Geles lipídicos 2%
<p>Fase oleosa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extracto 1,0 g • Croduret 0,250 g • Glicerina 1,0 g • Tween 80 0,250 g <p>Fase Acuosa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Carbopol 0,8 g • Goma xantan 0,2 g • Dimeticona 2,4 g • TEA 0,4 g • M.P. S. 0,090 g • P.P.S. 0,010 g • Agua purificada 93 mL 	<p>Fase oleosa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extracto 2,0 g • Croduret 0,125 g • Glicerina 0,5 g • Tween 80 0,125 g <p>Fase Acuosa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Carbopol 0,8 g • Goma xantan 0,2 g • Dimeticona 2,4 g • TEA 0,4 g • M.P. S. 0,090 g • P.P.S. 0,010 g • Agua purificada 94 mL
Geles etanólicos y de saponinas 1%	Geles etanólicos y de saponinas 2%
<p>Fase oleosa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extracto 1,0 g • Glicerina 1,0 g <p>Fase Acuosa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Carbopol 0,8 g • Goma xantan 0,2 g • Dimeticona 2,4 g • TEA 0,4 g • M.P. S. 0,090 g • P.P.S. 0,010 g • Agua purificada 94 mL 	<p>Fase oleosa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extracto 2,0 g • Glicerina 0,5 g <p>Fase Acuosa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Carbopol 0,8 g • Goma xantan 0,2 g • Dimeticona 2,4 g • TEA 0,4 g • M.P. S. 0,090 g • P.P.S. 0,010 g • Agua purificada 95 mL

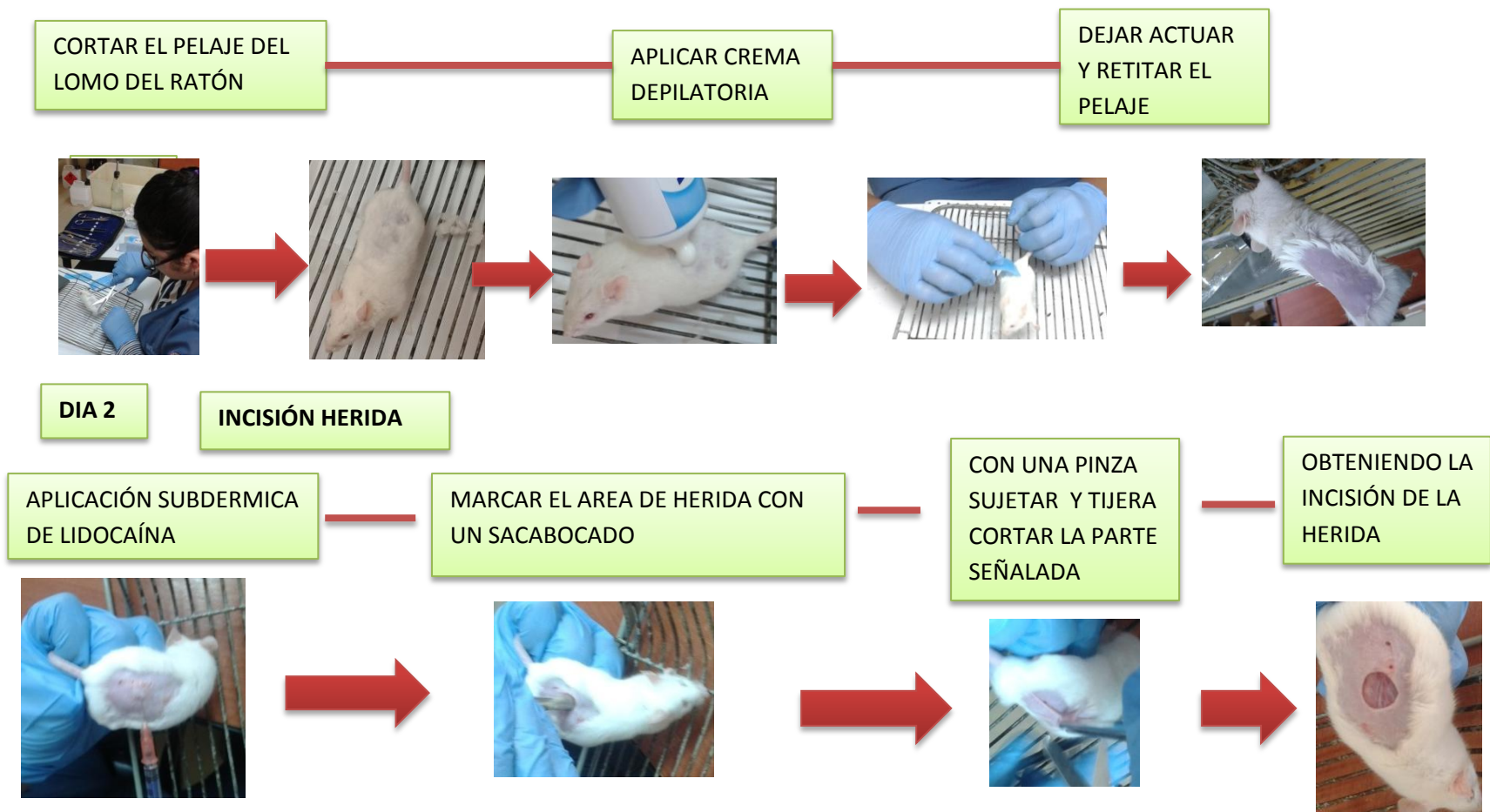
ANEXO N° 12: DIAGRAMA PARA LA ELABORACIÓN DE GELES A PARTIR DE EXTRACTOS LIPÍDICOS, ETANÓLICOS Y DE SAPONINAS DE DOS VARIEDADES DE QUINUA: QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN.



ANEXO N° 13: DIAGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD DE LOS GELES ELABORADOS A PARTIR EXTRACTOS LIPÍDICOS, ETANÓLICOS Y SAPONINAS DE DOS VARIEDADES DE QUINUA: QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN



ANEXO N° 14: DIAGRAMA PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE GELES ELABORADOS A EXTRACTOS LIPÍDICOS, ETANÓLICOS Y SAPONINAS DE DOS VARIEDADES DE QUINUA: QUINUA CRIOLLA BLANCA Y QUINUA TUNKAHUAN.



ANEXO N° 15: APLICACIÓN DEL GEL Y EVOLUCIÓN DE LA HERIDA

LIMPIAR LA HERIDA
CON SUERO
FISIOLÓGICO



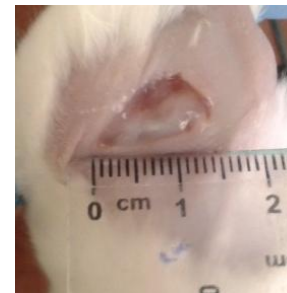
APLICACIÓN DEL GEL EN
LA MAÑANA



APLICACIÓN DEL GEL EN
LA TARDE



MEDIR LA HERIDA















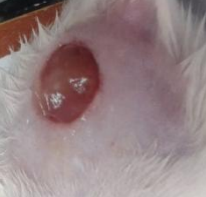
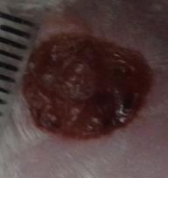
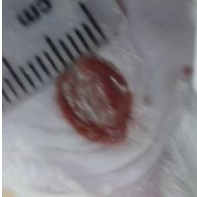







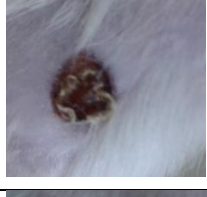















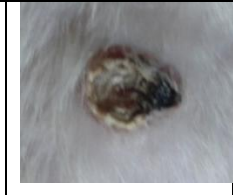



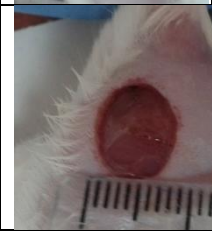


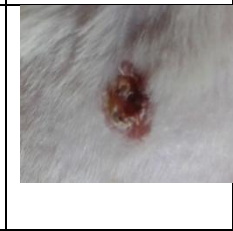
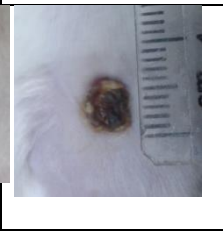


ANEXO N° 16: ÁREA NO CICATRIZADA DE LA HERIDA DURANTE 15 DÍA

Muestra	Día 1	Día 3	Día 5	Día 8	Día 11	Día 13	Día 15
	Área	Área	Área	Área	Área	Área	Área
1. E.LIP.QCB.1%	0,878	0,709	0,401	0,275	0,041	0,023	0,014
2. E.LIP.QCB.1%	0,878	0,704	0,607	0,321	0,049	0,031	0,024
3. E.LIP.QCB.1%	0,878	0,706	0,532	0,345	0,048	0,031	0,029
4. E.LIP.QCB.2%	0,878	0,678	0,598	0,300	0,157	0,076	0,059
5. E.LIP.QCB.2%	0,878	0,654	0,506	0,355	0,238	0,177	0,040
6. E.LIP.QCB.2%	0,878	0,632	0,523	0,378	0,200	0,089	0,014
7. E.LIP.TUN.1%	0,878	0,678	0,498	0,273	0,069	0,035	0,008
8. E.LIP.TUN.1%	0,878	0,627	0,479	0,127	0,042	0,027	0,019
9. E.LIP.TUN.1%	0,878	0,695	0,502	0,291	0,186	0,139	0,008
10. E.LIP.TUN.2%	0,878	0,786	0,564	0,342	0,094	0,031	0,009
11. E.LIP.TUN.2%	0,878	0,717	0,514	0,266	0,073	0,030	0,011
12. E.LIP.TUN.2%	0,878	0,657	0,499	0,315	0,061	0,014	0,006
13. E.ETA.QCB.1%	0,878	0,778	0,613	0,234	0,063	0,016	0,010
14. E.ETA.QCB.1%	0,878	0,675	0,474	0,261	0,092	0,076	0,036
15. E.ETA.QCB.1%	0,878	0,789	0,512	0,383	0,127	0,059	0,020
16. E.ETA.QCB.2%	0,878	0,820	0,711	0,633	0,212	0,135	0,051
17. E.ETA.QCB.2%	0,878	0,850	0,740	0,617	0,248	0,152	0,099
18. E.ETA.QCB.2%	0,878	0,790	0,691	0,660	0,279	0,186	0,044
19. E.ETA.TUN.1%	0,878	0,698	0,517	0,398	0,255	0,127	0,025
20. E.ETA.TUN.1%	0,878	0,673	0,546	0,403	0,174	0,069	0,020
21. E.ETA.TUN.1%	0,878	0,669	0,512	0,448	0,169	0,122	0,105
22. E.ETA.TUN.2%	0,878	0,762	0,578	0,450	0,106	0,104	0,055
23. E.ETA.TUN.2%	0,878	0,739	0,675	0,521	0,298	0,174	0,102
24. E.ETA.TUN.2%	0,878	0,755	0,599	0,412	0,092	0,040	0,014
25. E.SAP.QCB.1%	0,878	0,735	0,674	0,477	0,114	0,035	0,005
26. E.SAP.QCB.1%	0,878	0,727	0,651	0,496	0,129	0,073	0,018
27. E.SAP.QCB.1%	0,878	0,763	0,676	0,510	0,211	0,139	0,026
28. E.SAP.QCB.2%	0,878	0,763	0,612	0,453	0,259	0,166	0,038
29. E.SAP.QCB.2%	0,878	0,733	0,634	0,498	0,123	0,062	0,030
30. E.SAP.QCB.2%	0,878	0,783	0,627	0,591	0,188	0,053	0,016
31. E.SAP.TUN.1%	0,878	0,679	0,476	0,364	0,082	0,071	0,014
32. E.SAP.TUN.1%	0,878	0,698	0,535	0,337	0,097	0,077	0,012
33. E.SAP.TUN.1%	0,878	0,701	0,452	0,373	0,211	0,101	0,041
34. E.SAP.TUN.2%	0,878	0,791	0,548	0,404	0,170	0,101	0,053
35. E.SAP.TUN.2%	0,878	0,673	0,603	0,400	0,142	0,031	0,025
36. E.SAP.TUN.2%	0,878	0,767	0,598	0,495	0,159	0,068	0,051
Suero 1	0,878	0,789	0,604	0,459	0,346	0,285	0,101
Suero 2	0,878	0,728	0,611	0,559	0,446	0,309	0,123
Suero 3	0,878	0,769	0,654	0,532	0,498	0,329	0,115
Trolamina 1	0,878	0,689	0,403	0,209	0,090	0,018	0,010
Trolamina 2	0,878	0,695	0,567	0,301	0,038	0,030	0,019
Trolamina 3	0,878	0,656	0,543	0,315	0,040	0,021	0,015

ANEXO N ° 17: EVOLUCIÓN DE LA HERIDA DURANTE 15 DÍAS

GELES	DÍA 1	DÍA 3	DÍA 5	DÍA 8	DÍA 11	DÍA 13	DÍA 15
E.LIP. QCB. 1%							
E.LIP. QCB. 2%							
E.LIP. TUN. 1%							
E.LIP. TUN. 2%							
E.ETA.QCB. 1%							

E.ETA.QCB. 2%							
E.ETA.TUN. 1%							
E.ETA.TUN. 2%							
E.SAP.QCB. 1%							
E.SAP.QCB. 2%							

<p>E.SAP.TUN. 1%</p>							
<p>E.SAP.TUN. 2%</p>							

ANEXO N° 18: DIAGRAMA DE EVALUACIÓN DE HISTOPATOLÓGICA

