

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBALDEHUAMANGA**
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las
hojas de *Rumex crispus* L. "romaza". Ayacucho–2012

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

PRESENTADO POR:
Bach. VARGAS YAULI Mayeli Rosa

AYACUCHO– PERÚ

2012

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, la fé
incesante y a mi madre Angélica Yauli
Valladolid.

AGRADECIMIENTOS

A Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; por brindarme la oportunidad de mi formación Profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, y en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica.

Mi agradecimiento eterno a los Docentes de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica quienes contribuyeron con mi formación académica.

A mis asesores Mg. Q.F Enrique Javier Aguilar Felices y al Dr. Q.F Jhony Aldo Tinco Jayo por el apoyo, orientación, y conocimientos que hicieron posible el desarrollo y culminación de esta investigación.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE	iii
RESUMEN	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. <i>Rumex crispus</i> L. "romaza"	7
2.3. Metabolitos secundarios relacionados en la cicatrización	10
2.4. Cicatrización	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Lugar de ejecución	19
3.3. Animales de experimentación	19
3.4. Métodos para la recolección de datos	20
3.4.1. Recolección de la muestra	20
3.4.2. Preparación del extracto hidroalcohólico	20
3.4.3. Identificación de los metabolitos secundarios	20
3.4.4. Preparación de las concentraciones	20
3.4.5. Determinación del efecto cicatrizante	21
3.4.6. Diseño Experimental	22
3.5. Análisis de datos	22
IV. RESULTADOS	24
V. DISCUSIÓN	28
VI. CONCLUSIONES	34
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	40

Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza”. Ayacucho - 2012

Autor: Bach. Mayeli Rosa VARGAS YAULI

Asesores: Mg. Q.F Enrique Javier AGUILAR FELICES

Dr. Q. F Johny Aldo TINCO JAYO

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el propósito de determinar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza”, durante los meses de mayo a octubre del 2012, en los Laboratorios de Farmacología y Farmacognosia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, utilizando muestras recolectadas en el distrito de Huanta (Pampachacra), Región de Ayacucho. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza” se determinaron utilizando la metodología de Miranda y Cuellar (1996) y para evaluar el efecto cicatrizante se usó el método de test de cicatrización descrito por Howes. Dicha investigación se realizó en ratones albinos de un peso aproximado de 25 +/- 5g. Los ratones fueron clasificados en cinco grupos de tratamientos: gel (blanco), Dermaclín Plus®, (estándar), extracto hidroalcohólico de hojas al 1%; 2,5% y 5% de *Rumex crispus* L. “romaza”, los cuales fueron administrados en forma de gel.

El tratamiento con el extracto hidroalcohólico de hojas al 5% de *Rumex crispus* L. “romaza” presenta un mejor efecto cicatrizante que el Dermaclín Plus®, extracto hidroalcohólico al 2,5 % y 1%.

El análisis de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza” reporta la presencia de taninos y fenoles, flavonoides, esteroides y triterpenos, saponinas, catequinas y alcaloides.

Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas *Rumex crispus* L. “romaza” tiene efecto cicatrizante.

Palabras clave: Cicatrización, *Rumex crispus* L.

I. INTRODUCCIÓN

La curación de heridas es un tema tan antiguo como la historia del hombre. El hombre de Neandertal en Irak 60.000 A.C. usó hierbas contra quemaduras y según el papiro de Smith los apósitos datan desde 5000 años A.C. En el antiguo Egipto ya se usaban como apósitos el barro de gomas, resinas, miel, mirra y sustancias oleosas. Por otro lado, Hipócrates trataba a las heridas con vino, cera de abeja, roble sagrado, aceite y azúcar, escuela que incluso se mantiene hasta nuestros días (Andrades y Col., 2004).

Como vemos desde la antigüedad la medicina tradicional ha desempeñado un rol importante aliviando las enfermedades y el dolor. Actualmente existe un gran interés por el conocimiento y uso de medicinas alternativas, entre las que destaca la medicina natural (Bonilla y Col., 2007).

La herida es una pérdida de continuidad de la piel o mucosa producida por algún agente físico o químico. El conjunto de procesos biológicos que utiliza el organismo para recuperar su integridad y arquitectura se le conoce como proceso de cicatrización la cual involucra fases (Salem y Col., 2000).

Rumex crispus L. "romaza", o también conocida como lengua de vaca, pertenece a la familia de las polygonaceae. El cocimiento de las raíces se usa como tónico y antiséptico (Mostacero y Mejía, 1993).

En forma tradicional se usa como cataplasma con las hojas calentadas, zumo de las hojas usadas como desinfectante y depurativo de la sangre (Zágarra y Vogel, 2006).

Las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo. Aunque no existen datos precisos para evaluar la extensión del uso global de plantas medicinales, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80% de la población mundial utiliza, rutinariamente, la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades de atención primaria de salud y que gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos (Oliveira y Col., 2005)

Por lo mencionado anteriormente y con el propósito de rescatar la información tradicional de las plantas medicinales y hacer posible su integración a la medicina científica, se realizó la investigación de la especie *Rumex crispus* L. "romaza", para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General:

Determinar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza".

Objetivos Específicos:

-Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza".

- Determinar la concentración que tiene mejor efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas *Rumex crispus* L. "romaza".
- Comparar el porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza", con el estándar (Dermaclín Plus®).

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde tiempos remotos como agentes terapéuticos y su empleo como tales ha sido transmitido de generación en generación hasta nuestros días.

Rodolfo (1991), realizó la determinación química bromatológica de *Rumex crispus* L. "acelga silvestre". En este trabajo se demostró que dicha planta presenta un contenido promedio de humedad (91,24%), proteínas (1,62%), extracto etéreo (2,67%), ceniza (1,28%), fibra neta (1,36%), y carbohidratos (1,52%). Por otro lado la determinación bromatológica demuestra un valor nutritivo de (5,12 kcal/100g) y un valor calórico de (37,42 kcal/100g).

Orna y Llacsahuanga (2000), llevaron a cabo el estudio del efecto cicatrizante de un gel formulado a base de *Rumex cuneifolius* *Campdera* "cutu rumansa", donde se efectuaron cocimientos de la especie a diversas concentraciones dando mayor resultado al 8%, el gel preparado al 16% produce mayor efecto cicatrizante corroborado con el método de fuerza de tensión aplicado. La marcha fitoquímica reportó azúcares, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, gomas y mucílagos.

Yildirim y Col. (2001), llevaron a cabo la determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos de *Rumex crispus* L. En este trabajo se utilizaron los extractos etéreo, etanólico y acuoso de las hojas y semillas. Solamente el extracto acuoso y etanólico demostraron actividad antioxidante. De otro lado, los extractos etéreos de las hojas y las semillas y el extracto etanólico de las hojas han demostrado actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. Mientras que los extractos acuosos no mostraron actividad antimicrobiana frente a los microorganismos estudiados.

Gunaydin y Col. (2002), aislaron de las raíces de *Rumex crispus*, dos antraquinonas conocidas y una nueva, sus estructuras fueron elucidadas por medio de espectroscopía micelar. Baskán y Col. (2007), llevaron a cabo el análisis de antraquinonas en *Rumex crispus*, donde analizaron las antraquinonas farmacéuticamente importantes de la raíz de *Rumex crispus*, lográndose la separación de 1,5 - dihidroxi - 3 - metilantraquinona; 1, 3,5 - trihidroxi - 6 - hydroximetilantraquinona y 1,5 - dihidroxi - 3 - metoxi - 7 metilantraquinona, siendo el método sencillo, rápido y reproducible.

Fan y Zhang (2009), realizaron los estudios sobre los componentes químicos de *Rumex crispus* L., donde lograron aislar e identificar, entre otros compuestos, beta- sitosterol; crisofanol; emodina; crisofanol-8-O-beta-D-glucopiranosido; emodina-8O- beta-D-glucopiranosido; ácido gálico; catequinas; camferol; quercetina; camferol-3-O- alfa-L-ramnopiranosido, quercetina-3-O-alfa-L-ramnopiranosido.

Suh y Col. (2011), llevaron a cabo una investigación en la que determinaron diferentes extractos de semillas de *Rumex crispus* L. En este trabajo fueron evaluados el efecto de secuestro de radicales libres (DPPH) y el contenido de compuestos fenólicos totales en extractos de las raíces de

Rumex crispus L. Las extracciones con butanol y acetato de etilo demostraron un efecto notable frente a DPPH y protegen a los sistemas biológicos de efectos perjudiciales *in vitro*. Ambos extractos fueron los que más contenido de fenoles totales tuvieron.

Maksimovic y Col. (2011), estudiaron la actividad antioxidante de los frutos del extracto de la "lengua de vaca", *Rumex crispus* L. Aquí demostraron que el extracto metanólico posee una considerable actividad antioxidante, reducción de radicales libres (DPPH) y la influencia sobre la peroxidación lipídica en liposomas; pero más baja que la actividad del ácido ascórbico, rutina y quercetina. Así mismo, inhibe el estrés oxidativo evaluado en varios sistemas antioxidantes hepáticos.

Mendoza (2010), en su investigación de la actividad cicatrizante del extracto alcohólico del fruto de *Sambucus peruviana* "sauco", determinó en su respectivo screening fitoquímico: flavonoides, taninos y fenoles, catequinas, lactonas y/o cumarinas; los cuales le confieren la propiedad cicatrizante a esta especie, por tener la capacidad de generar los tejidos que favorecen la cicatrización de heridas.

Pillaca (2008), determinó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las flores y hojas de *Ligaria cuneifolia* "tullma" resultando que el extracto hidroalcohólico de las hojas- flores al 1% (partes iguales) de "tullma" tiene un mejor efecto cicatrizante que el Cicatrin.

Hinostroza (2009), determinó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni "estevia", obteniendo que el extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas al 1,5 y 2% de "estevia" tiene efecto cicatrizante estadísticamente superior al Cicatrin.

2.2 *Rumex crispus* L. “romaza”

2.2.1. Clasificación Taxonómica

DIVISION	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	: POLYGONALES
FAMILIA	: POLYGONACEAE
GENERO	: <i>Rumex</i>
ESPECIE	: <i>Rumex crispus</i> L.
N.V.	: “romaza”, “lengua de vaca”.

Fuente: Constancia emitida por el Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga (Anexo N° 1).

2.2.2 Descripción botánica

El género *Rumex* consta de unas 200 especies, la mayoría es de las regiones templadas y en el Perú se conocen siete. (Mostacero y Mejía, 1993)

Rumex crispus es una hierba perenne, de hasta un metro de alto. Raíz de tipo axomorfo, gruesa y profunda. Tallos erectos, poco ramosos. Hojas inferiores largamente pecioladas, oblongo-lanceoladas con el margen encrespado. Hojas superiores lanceoladas, cortamente pecioladas. Flores bisexuales en general agrupadas en panojas densas, estrechas, alargadas, desprovistas de hojas en la parte superior. Flores agrupadas en fascículos o pequeños grupos.

Perigonio calicino, formado por seis tépalos ligeramente verdes herbáceos en dos verticilos más o menos iguales. Androceo compuesto de seis estambres libres, de filamentos cortos. Gineceo de ovario súpero tricarpelar, con estilos cortos, terminados en estigmas penicilados (Loja, 2002).

Fruto aquenio trigono con estructuras membranosas aladas, reticuladas, anchamente ovadas o semicirculares, que derivan de los tres tépalos internos.

2.2.3 Hábitat y distribución geográfica

Es una planta nociva o maleza muy común de los lugares húmedos, borde de acequias y campos cultivados con riego permanente en los que se establecen fuertemente y ocasionan grandes pérdidas a la agricultura. Se propagan usualmente por medio de semillas (Comejo, 1983)

Rumex crispus, crece en forma natural en los valles interandinos, generalmente de 2100 a 3000 msnm. Su hábitat son los bebederos naturales, borde de las acequias y riberas de los riachuelos durante la época de lluvia.

Rumex crispus compite con otras especies del mismo género como: *Rumex acetosa*, *Rumex acetocella*, *Rumex obtusifolius*, entre otros, como también con otras plantas por espacio, suelo nutrientes agua y otros alimentos. Se hallan distribuidos en los departamentos de Ancash, Cuzco, Junín, Ayacucho a nivel de Perú; en tanto que a nivel de Sudamérica se hallan distribuidos en Bolivia, Chile, Brasil, Uruguay; y a nivel de Europa, en España y Gran Bretaña (Cerrate, 1974).

2.2.4 Composición Química:

Solo se conocen algunos grupos de metabolitos secundarios, los cuales han sido identificados mediante el empleo del tamizaje fitoquímico, desarrollado por Fan y Zhang (2009) los componentes químicos de *Rumex crispus L.*, identificados son entre otros compuestos, beta- sitosterol; crisofanol; emodina; crisofanol-8-O-beta-D-glucopiranosido; emodina-8O- beta-D-glucopiranosido; ácido gálico; catequinas; camferol; quercetina; camferol-3-O- alfa-L-ramnopiranosido, quercetina-3-O-alfa-L-ramnopiranosido.

Los frutos del extracto de la "lengua de vaca", *Rumex crispus L.* demostraron que el extracto metanólico posee una considerable actividad antioxidante, reducción de radicales libres (DPPH) y la influencia sobre la peroxidación lipídica en liposomas; pero más baja que la actividad del ácido ascórbico, rutina y quercetina (Maksimovic y Col., 2011).

De la raíz de *Rumex crispus*, se lograron analizaron las antraquinonas farmacéuticamente importantes, lográndose la separación de 1,5-dihidroxi-3-metil-antraquinona; 1, 3, 5-trihidroxi-6-hidroxi-metil-antraquinona y 1,5-dihidroxi-3-metoxi-7-metil-antraquinona (Baskán y Col., 2007).

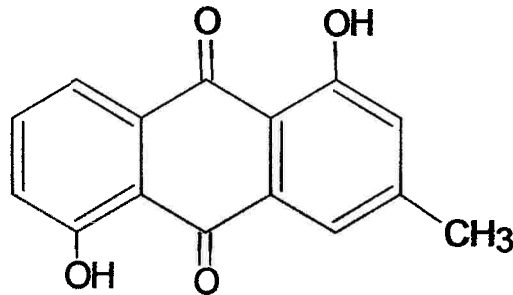


Figura N° 1. 1,5- dihidroxi-3-metil-antraquinona

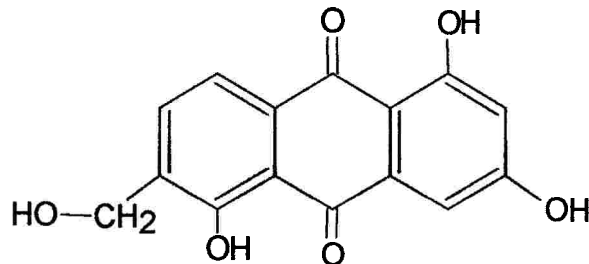


Figura N° 2. 1, 3,5- trihidroxi-6-hidroxi-metil-antraquinona

2.2.5 Propiedades y usos medicinales

Las hojas verdes bien molidas se emplean en cataplasma en el tratamiento de muchas dermatosis; en la curación de llagas o heridas. El agua de la maceración de las hojas, se emplea como astringente en ciertas afecciones oculares; las hojas cocidas, hechas ensalada, se venden en el departamento de Arequipa con el nombre de "zarzaparrilla" y se emplean en cocimiento, como depurativo; el cocimiento de la raíz, en baños contra la sama (Brack, 2001)

El cocimiento de las raíces se usa como tónico y antiséptico (Mostacero, 1993).

2.3 Metabolitos Secundarios relacionados en el proceso de cicatrización

A los principios del metabolismo secundario (metabolitos secundarios) se les considera como no esenciales para la vida, aunque pueden ser fundamentales para que pueda realizar una determinada función biológica. Son, sin duda alguna, los compuestos de mayor interés farmacológico, los que van a constituir los llamados "principios activos" de la droga (Villar del Fresno, 1999)

Flavonoides

Son compuestos fenólicos, responsables de la coloración de flores y frutos, por lo tanto "guías de néctar". Tienen como núcleo básico al 2 - fenil cromano. Farmacológicamente son antioxidantes (por quelación de metales), acción antiespasmódica, antiinflamatoria, anticoagulante indirecto de la sangre, acción diurética, antiedematoso, hipocolesterolemia (Bruneton, 1991).

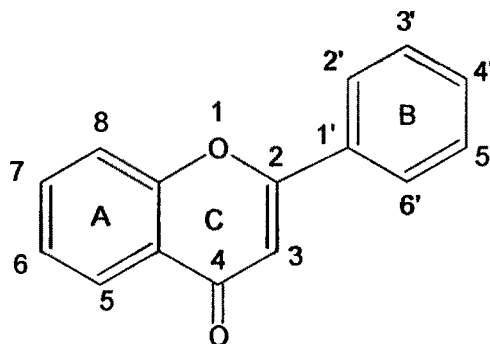


Figura Nº 3. 2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides

Taninos

El término "tanino" fue introducido por Seguin en 1796 para designar a ciertas sustancias presentes en extractos vegetales capaces de combinarse con las proteínas de la piel, evitando su putrefacción y convirtiéndola en cuero.

Se distinguen desde antiguo, en los vegetales superiores, dos grupos de taninos diferentes por su origen biosintético: taninos hidrolizables y taninos condensados

(Villar del Fresno, 1999). Los taninos son conocidos desde la antigüedad por sus propiedades curtientes, astringentes y antiinflamatorios. Útil como cicatrizante (uso externo) y atidiarreico (uso interno) (Lock, 1994).

La acción protectora e inhibitoria de las secreciones y exudaciones hace útiles a los taninos en la curación de heridas, se absorbe fácilmente por la piel, se aprovecha en lesiones de procesos cutáneos, tales como ulceraciones, escaras, grietas cutáneas y por la acción astringente la piel lesionada queda retraída (Litter, 1988).

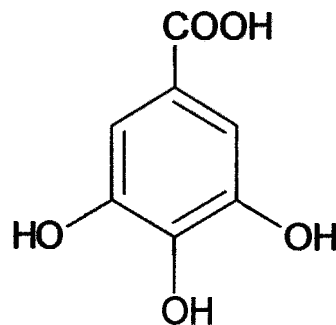


Figura Nº 4. Estructura molecular del ácido gálico (Kuklinski, 2003)

Antraquinonas

Son compuestos coloreados, de gran variedad estructural y muy abundante en la naturaleza. Los compuestos antraquinónicos derivan del antraceno, núcleo formado por 3 núcleos bencénicos condensados en forma lineal.

Estas poseen propiedades colorantes, laxantes y efectos antibióticos.

2.4 CICATRIZACIÓN

2.4.1 Piel

La piel es el órgano más extenso y superficial del cuerpo humano y cumple funciones importantes como: protección del organismo al constituir una barrera contra agentes físicos; regulación térmica corporal a través del sudor y el control del flujo sanguíneo en la dermis; comunicación entre el medio ambiente y el

corporal, percepción de sensaciones, tacto, presión, temperatura, dolor y respuestas a estas sensaciones; eliminación y absorción, excreción de sales minerales, ácido úrico y láctico a través del sudor y el paso de sustancias químicas, como el oxígeno y el dióxido de carbono; autoreparación de heridas que promueve la división celular y la renovación tisular acelerada.

2.4.2 Herida

La herida es una pérdida de continuidad de la piel o mucosa producida por algún agente físico o químico. Y el conjunto de procesos biológicos que utiliza el organismo para recuperar su integridad y arquitectura se le conoce como proceso de cicatrización la cual involucra fases (Salem y Col., 2000)

Cuando un organismo sufre una lesión, la herida sangra y forma un coágulo que ayuda a detener la pérdida de sangre. Los vasos sanguíneos que rodean el sitio de la herida se dilatan, permitiendo que las células circulantes, oxígeno y materia nutritiva lleguen al área lesionada. Los fagocitos retiran los desechos y al segundo día aparecen brotes capilares endoteliales en el coágulo. Los fibroblastos (células del tejido conectivo) se multiplican en la herida y se combinan con los vasos sanguíneos en desarrollo para formar el tejido de granulación. Debido a esta rápida capacidad regenerativa de la epidermis, en unos cuantos días quedara completamente cubierta la lesión (Brady, 1992).

2.4.3 Cicatrización

La cicatrización de las heridas conlleva un conjunto de procesos biológicos y celulares que se produce como respuesta de los tejidos a una lesión, y tiene como finalidad, obtener la recuperación funcional de los mismos (Cárdenas, 1993).

El proceso de curación y cicatrización de las heridas va comprender fases, las cuales son secuencias para la regeneración de los tejidos dañados; sin olvidar

que pueden existir factores físicos y químicos que puedan retrasar la cicatrización.

2.4.3.1 ETAPAS DE LA CICATRIZACIÓN

Según (Ramírez, 2010) las etapas de la cicatrización se desarrollan de la siguiente manera.

A) HEMOSTASIA

La hemostasia y coagulación se inicia con la activación de los elementos celulares de la sangre y lleva la formación del coagulo o tampón hemostático, proceso en el cual participan la cascada de los factores de coagulación y la agregación plaquetaria.

Las plaquetas se agregan y activan cuando se exponen a colágeno extravascular, proceso facilitado, además, por la trombina. La adhesión plaquetaria entre sí y con colágeno y fibrina incluye receptores de integrina en la superficie de las plaquetas y este proceso es mediado por cuatro glicoproteínas adhesivas: fibrinógeno, fibronectina, trombospondin y factor de Von Willebrand, todos los anteriores derivados del suero y los gránulos alfa de las plaquetas. La agregación plaquetaria también lidera la liberación de citoquinas de los gránulos alfa en el citoplasma de las plaquetas. Estas citoquinas incluyen factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformador (TGF) beta y alfa, factor de crecimiento de fibroblastos (bFGF).

Las plaquetas tienen lisozimas y gránulos densos en su citoplasma. Las lisozimas contienen proteasas (metabolismo celular) y los gránulos densos contienen ácido araquidónico, calcio, nucleótidos de adenina y serotonina. Los metabolitos del ácido araquidónico junto con el factor de Hageman (de la vía intrínseca) estimulan la bradiquinina y con esto se inicia la cascada del complemento.

B) INFLAMACIÓN

Los neutrófilos son las primeras células en llegar a la herida, una vez que estos llegan al intersticio, se dan las interacciones "célula- célula, "célula- matriz" iniciando así la fagocitosis de cuerpos extraños y digiriéndolo mediante la acción de enzimas hidrolíticas y radicales de oxígeno. Luego de esta fagocitosis los neutrófilos son fagocitados por macrófagos. Las alteraciones en el pH (bacterias), el edema y la disminución en la oxigenación tisular, causan el dolor.

Posterior a ello, se produce el acumulo de monocitos que reemplaza a los neutrófilos. Los monocitos de los vasos, al migrar al tejido se transforman en macrófagos y se unen y se unen a las proteínas de la matriz extracelular, promoviendo la fagocitosis (descontaminación del foco y desbridamiento auto lítico facilitado por las colagenasas). De igual manera las endotoxinas bacterianas liberan la Interleucina (IL-1) de los macrófagos y estos a su vez liberan (IL-8) que atraerá más neutrófilos e incrementara la destrucción tisular.

Los macrófagos, una vez unidos a la matriz extracelular sufren cambios y pasan de comportarse de células inflamatorias a células reparadoras, que liberan citoquinas y factores de crecimiento (TGF alfa y beta, PDGF, FGF, IGF1) con un papel importante en la neoformación tisular, permitiendo también la inducción de la angiogénesis y formación del tejido granular.

C) PROLIFERATIVA O DE GRANULACIÓN

Dos días luego de la herida los primeros fibroblastos vienen de tejidos adyacentes, posteriormente por factores de crecimiento.

La migración de los fibroblastos, da inicio al depósito de una neomatriz provisional de fibronectina y ácido hialurónico estimulados por citoquinas y factores de crecimiento, para comenzar a sintetizar la matriz de colágeno (I,III y IV).La angiogénesis y formación del tejido de granulación se inician con la

fibroplasia; los vasos sanguíneos adyacentes a la lesión emiten yemas capilares, en cuyo extremo se encuentran las células endoteliales que sufren cambios para proyectar pseudópodos a través de membranas basales fragmentadas y migrar la espacio perivascular, esta proliferación es importante ya que la participación e la angiopoyetina 2 interactúa con el receptor de las células endoteliales haciéndolas más laxas y disminuyendo el contacto de estas con la matriz para favorecer la acción del VEGF(Factor de crecimiento vascular-endotelial).

La disminución de la tensión de O₂, estimula a los macrófagos para que secreten y produzcan factores angiogénicos, ayudado también por la migración de las células endoteliales los cuales forman brotes capilares que se dividen en sus extremos y luego se unen formando asas y dan origen a los plexos capilares. Inmediatamente del cese de los estímulos angiogénicos, los capilares sufren regresión por múltiples factores como la adherencia plaquetaria a las células endoteliales y la ingestión de los capilares necrosados por los macrófagos.

Por último se da el reclutamiento de las células periendoteliales(células de musculo liso y pericitos) que van a estabilizar los vasos recién formados.

D) EPITELIZACIÓN

Para llevarse a cabo la epitelización de la herida, los queratinocitos deben migrar desde los bordes de la herida o de los anexos remanentes con el fin de restablecer la barrera cutánea, todo por cambios como la pérdida del aparato de adhesión gracias a la retracción de los tonofilamentos y disolución de desmosomas, expresión de citoqueratina 6 y 16, los cuales son marcadores del estado activo; estos procesos conllevan a la pérdida de la unión de las células epidérmicas entre sí, a la membrana basal y a la dermis subyacente, permitiendo su migración.

El ciclo de activación del queratinocito comienza con la IL-1, que lo y transforma en célula hiperproliferativa y migratoria, dicha actividad la realiza sobre una matriz rica en fibronectina; posterior a ello la migración será sobre la matriz rica en colágeno. La proliferación ocurre en forma superpuesta a la migración, mientras las células epiteliales migran a través de la herida, las células proximales proliferan por el estímulo de mediadores solubles.

Para que el queratinocito finalice su proceso de migración y proliferación existen varias señales como: INF alfa producido por las células inflamatorias lo estimula a expresar células citoqueratina, que lo convierte en contráctil y facilita la reorganización de la matriz de la membrana basal provisoria y el TGF beta estimula la producción de queratinas que lo convierten en una célula basal para iniciar nuevamente la diferenciación y reparación de la membrana basal con el nuevo depósito de laminina, también es una señal que indica que la herida ya está reparada y no hay necesidad de migrar.

La matriz intersticial es producida por los fibroblastos y otras células. Los proteoglicanos (principal componente de la matriz) son compuestos de glucosaminoglicanos y proteínas. Esto da una matriz más rígida en los estadios iniciales de la cicatriz, con la maduración de la misma disminuye su concentración con la consiguiente pérdida de rigidez.

E) REMODELACIÓN O CONTRACCIÓN

Es la última etapa y comienza con la fibroplasia y continúa por meses. La célula principal que participa es el fibroblasto que produce fibronectina, ácido hialurónico, proteoglicanos y colágeno durante la fase de reparación, los cuales sirven como base la migración celular y soporte tisular. La fibronectina y el ácido hialurónico desaparecen por acción de proteasas y hialuronidasas respectivamente.

El colágeno tipo III es reemplazado por el de tipo I, siendo más estable; esta degradación se debe a la acción de las metaloproteinas (colagenasas, gelatinasas y estromalinasas), cuya actividad depende de los iones de zinc los cuales son estimulados por los factores de crecimiento y la matriz extracelular.

Los fibroblastos sufren toda una serie de cambios fenotípicos; primero adoptan un fenotipo migratorio, luego un fenotipo profibrótico (producen colágeno I,III y IV), posterior a ello adoptan un fenotipo de miofibroblasto (rico en microfilamentos de actina y establece uniones célula- célula) ,este colágeno neo formado se une a través de enlaces covalentes cruzados con haces del borde de la herida y con haces de la dermis adyacente, estas uniones crean una red a través de la herida y así la tracción que realizan los fibroblastos a la matriz pericelular se puede transmitir dando como resultado una contracción coordinada, estimulada por el TGF beta, la angiotensina, las prostaglandinas, la bradiquinina y la endotelina.

En el último día de la cicatrización los fibroblastos inician su proceso de apoptosis, estableciéndose una tracción de una cicatriz rica en fibroblastos y tejido de granulación, a una cicatriz acelular.

Al final del proceso la actividad celular disminuye y el tejido conjuntivo cicatrizal se torna rico en colágeno, pobre en células y vasos, sin folículos pilosos y sin glándulas sudoríparas ni sebáceas. La dermis recupera la composición previa a la lesión y alcanza una resistencia máxima del 70% comparada con el tejido previo y la reparación de la herida se considera finalizada.

Además Trott (2007), menciona que los fibroblastos se deslizan por filamentos de fibrina del coágulo y de colágeno. Este proceso depende de un buen aporte de oxígeno y se ve afectado por mala perfusión, pocos nutrientes, disminución en la actividad anabólica y los corticoides.

El exceso en los depósitos de la cicatriz lleva a la hipertrofia, la cual impide los movimientos del tejido y produce una cicatriz friable y dolorosa. El aumento en la producción del tejido conectivo conlleva a la formación del queloide.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Lugar de Ejecución.

El presente trabajo de Investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Farmacognosia y Farmacología del Área Académica de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de mayo a octubre del 2012.

3.2 Definición de la población y muestra

Población: Hojas de la especie de *Rumex crispus* L. "romaza"; recolectadas de la Provincia de Huanta, centro poblado de Maynay, de la Región de Ayacucho.

Muestra: 1 Kg. de hojas secas de la especie de *Rumex crispus* L. "romaza".

3.3 Animales de experimentación

Se utilizó 30 ratones albinos machos de la especie *Mus mûsculos*, de la cepa Balb/c/CNPB; de un peso aproximado de 20 +/- 5 g; pertenecientes al Lote N°: M-05-2012. Los ratones fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud, los cuales fueron acondicionados con alimento balanceado y agua.

3.4 Métodos para la recolección de datos

3.4.1 Recolección de Muestra: Se procedió a recolectar hojas frescas de *Rumex crispus* L. "romaza" del distrito de Huanta en horas de la mañana (6:00 a.m.) (Anexo N° 2). Se escogió las ramas que no estén dañadas ni maltratadas y se distribuyó en una habitación ventilada sobre papel periódico para su secado, aproximadamente durante una semana. Después se molió haciendo uso de un molino a la contextura de polvo.

3.4.2. Preparación del extracto hidroalcohólico

Se utilizó 500g. de muestra seca y molida, el cual se maceró en un frasco de color ámbar por un periodo de una semana aproximadamente en 2,5 L. de alcohol al 80%, éste cubrió a la muestra por un cm. de diferencia. Durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se procedió a filtrar y concentrar en el rotavapor a una temperatura de 30°C., secando finalmente en la estufa a 40°C. hasta obtener un extracto seco.

3.4.3 Identificación de los metabolitos secundarios

Las reacciones de identificación se realizó siguiendo la metodología propuesta por Miranda y Cuellar (2000) (Anexo N° 3).

3.4.4 Preparación de las concentraciones

Para la aplicación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza"; se preparó en forma de gel a base de la CMC disolviendo para ello un gramo de la muestra (extracto hidroalcohólico de las hojas) en 20 mL. de agua destilada; luego se añadió agua destilada cantidad suficiente para 50 mL. y se procedió a calentar, para luego añadir un gramo de carboximetilcelulosa. De este modo se obtuvo las concentración de 1%, 2,5% y 5% respectivamente.

3.4.5 Determinación del efecto cicatrizante

Modelo experimental: El modelo que se usó fue propuesto por Howes E., que se basa en el fundamento de test de cicatrización (Arroyo y Col., 2004).

Fundamento: Es la medida de la fuerza de tensión ejercida y necesaria para abrir una herida incisa de un cm. de largo, realizada en el tercio superior del lomo del ratón.

Procedimiento

- Se depiló el lomo del ratón en un área aproximada de dos centímetros cuadrados, esto se realizó 24 horas antes con el fin de descartar una reacción alérgica a la crema depiladora.
- Se pesó a los ratones y se colocaron en jaulas individuales.
- Se anestesió con halatal 74 mg/kg; V.E para una buena manipulación.
- Luego se realizó la incisión de un centímetro de largo en el lomo del ratón, previamente la zona se desinfectó.
- Después se afrontó los bordes de la herida y se realizó la sutura con un punto simple triple.
- Se aplicó la primera dosis de tratamiento a la unidad experimental, y se repitió cada ocho horas, por un periodo de cinco días.
- Pasado los cinco días se procedió a sacrificar al ratón con una sobre dosis de Halatal.
- Al momento de quitar el punto de sutura se colocó al animal en posición de cubito ventral sobre el aparato de tensión.
- Se insertó las agujas del aparato de tensión a 0,5 cm de los bordes de la

herida y se dejó caer agua al vaso, hasta que genere la tensión que abra la herida en toda su longitud.

El porcentaje de efecto cicatrizante se halló por la siguiente fórmula:

$$\% A = \frac{X_{\text{tto}} - X_o}{X_o} \times 100$$

X_{tto} : Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado.

X_o : Fuerza promedio para abrir la herida del grupo sin tratamiento (Blanco).

3.4.6 Diseño experimental

El diseño experimental será aquel completamente randomizado. Las concentraciones elaboradas serán sometidas a la actividad cicatrizante, los animales de experimentación serán divididas de manera aleatoria en cinco grupos cada uno seis repeticiones para cada grupo:

- Grupo I : Blanco (gel, sin la especie vegetal en estudio)
- Grupo II: Estándar: Dermaclín Plus® (polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos 1%)
- Grupo III: Extracto hidroalcohólico de hojas al 1% de *Rumex crispus L.* "romaza".
- Grupo IV: Extracto hidroalcohólico de hojas al 2,5% de *Rumex crispus L.* "romaza".
- Grupo V: Extracto hidroalcohólico de hojas al 5% de *Rumex crispus L.* "romaza".

3.5 Análisis de datos

Los resultados a obtenerse se representarán mediante cuadros y gráficos. La diferencia significativa existente entre los tratamientos será evaluada a través del análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05.

Las comparaciones entre cada tratamiento se harán con la Prueba HSD de Tukey, para cuyo efecto se recurrirá al uso del programa SPSS versión 17,0.

V.RESULTADOS

Cuadro N° 01: Resultado de los ensayos de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus L.* "romaza" Ayacucho-2012.

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACCIÓN	RESULTADO	OBSERVACIÓN
Alcaloides	Dragendorf	+	Formación de precipitado
	Wagner	+	
	Mayer	+	
Catequinas	NaCO₃+Luz UV	++	Verde-esmeralda
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración rojo
Esteroides y/o triterpenos	Lieberman	+++	Verde oscuro-negro
Lactonas y Cumarinas	Baljet	++	Pardo -rojizo
Espuma	Saponinas	+++	Formación de espuma
Taninos y Fenoles	Cloruro Férrico	+++	Azul intenso

Leyenda:

+++ Abundante

++ Moderado

+ Leve

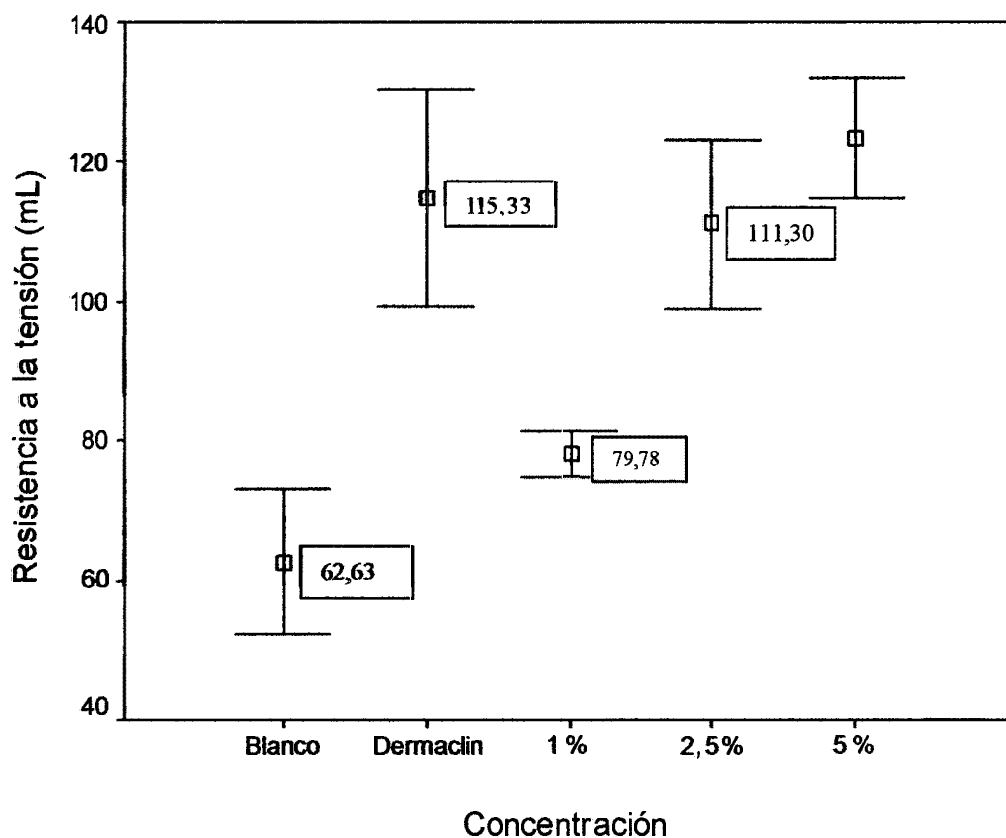


GRÁFICO Nº 1. Resistencia a la tensión para evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza" ($p < 0,05$). Ayacucho – 2012.

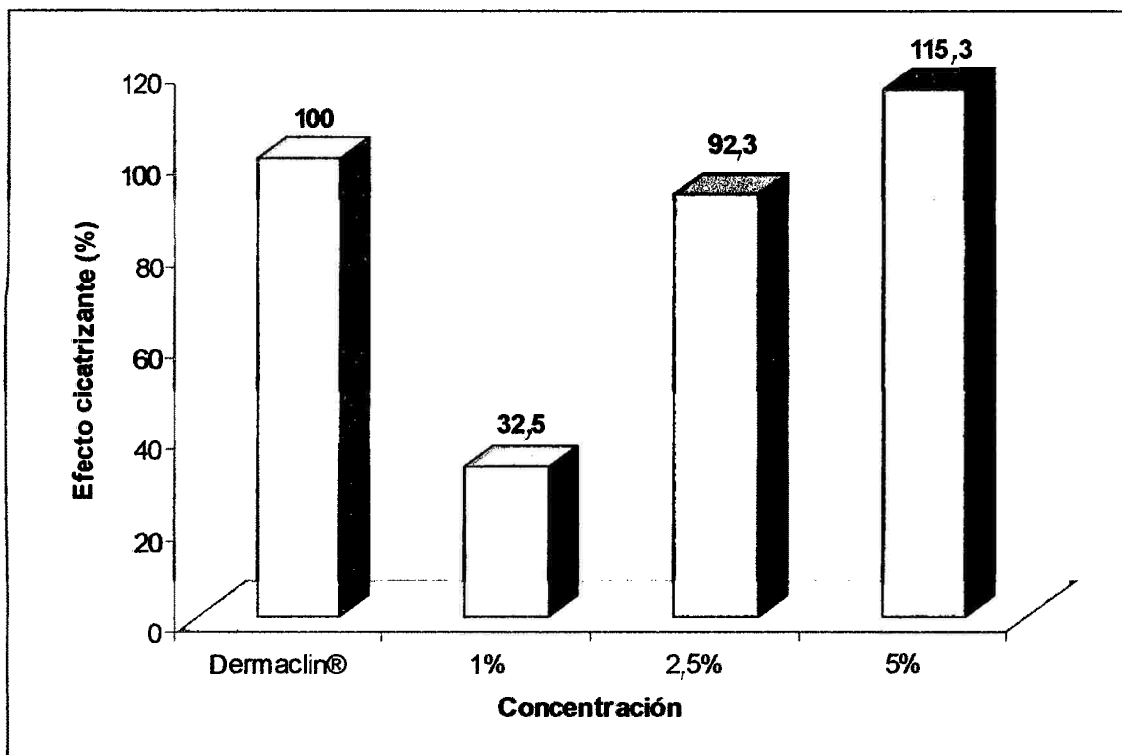


GRÁFICO N° 2. Porcentaje del efecto cicatrizante a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza". Ayacucho– 2012.

V. DISCUSIÓN

Las plantas y sus extractos tienen un inmenso potencial para el manejo y tratamiento de las heridas. Estos agentes naturales inducen a la curación y la regeneración del tejido perdido por múltiples mecanismos (Rayna y Col., 2008).

Los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza" (Cuadro N°1) muestran la presencia de fenoles, taninos, flavonoides, alcaloides, saponinas, terpenos y/o esteroides, cumarinas, etc los cuales coinciden con las investigaciones reportadas en otra especie de la misma familia; adicionalmente a lo que se señala encontramos mucilago, azúcares (Orna y Llacsahuanga, 2000). Los flavonoides son sustancias que representan a uno de los más importantes grupos de compuestos con actividad farmacológica y poseen una alta reactividad química que se manifiesta por sus efectos sobre diferentes sistemas biológicos; muchas de esas propiedades son atribuidas a los flavonoides como: antimicrobiana, antialérgica, diurética, antivírica, cicatrizante, antiagregante plaquetario y hepatotóxico (Lock, 1994).

El metabolito secundario más relacionado con el efecto cicatrizante son los taninos, los cuales son solubles en agua y solventes orgánico polares como el

alcohol (Kuklinski, 2003) la principal acción y uso es como astringente debido a su capacidad para precipitar proteínas.

Las aplicaciones de las drogas con taninos derivan de sus propiedades astringentes: por vía externa impermeabilizan las capas externas de la piel y mucosas, protegiendo así las capas subyacentes a esto hay que añadir un efecto vasoconstrictor sobre los pequeños vasos superficiales. Al precipitar proteínas, los taninos originan un efecto microbiano y antifúngico (Bruneton, 1991).

Los flavonoides por tanto presentan actividad antiinflamatoria debido a que inhiben la síntesis de prostaglandinas, similares a los taninos que tienen actividad de disminuir la permeabilidad capilar, lo que les confiere una actividad antiinflamatoria (Martini, 2005).

La evaluación de la resistencia de las heridas es un proceso de cicatrización que fue reportado por primera vez en 1929 por Howes y Col. En 1965, fue investigada la cicatrización normal en la piel de la rata, evaluando la resistencia a la tensión como porcentaje del valor de la piel no lesionada, frente a los días después de la incisión (Guillermo y Col., 2005). En el Perú se realizaron estudios para evaluar el efecto cicatrizante de plantas medicinales utilizando el método tensiométrico propuesto por Howes, método usado en el presente trabajo.

En el Gráfico N° 01 podemos observar la resistencia a la tensión expresada en (mL.) por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza" .Se aprecia los rangos de variación del volumen de tensión por efecto cicatrizante de los diferentes tratamientos ensayados, donde se expresa la resistencia del tejido generado a la tensión ejercida por un determinado volumen de agua, que indica que a mayor volumen de agua el tejido se ha regenerado adecuadamente, comparando esta actividad frente a un blanco. El tratamiento del blanco es diferente al tratamiento con Dermaclín Plus®, extracto hidroalcohólico de las hojas al 1%, extracto hidroalcohólico al 2,5% y que estos a

su vez difieren del extracto hidroalcohólico al 5% de *Rumex crispus* L. "romaza". Indicando que ciertas concentraciones son más efectivas que el control y demostrando que las heridas tratadas con bajas concentraciones muestran resultados muy inferiores en el efecto cicatrizante. Con lo que también se puede indicar que el efecto cicatrizante depende de la mayor concentración del extracto en tratamiento.

En el Cuadro N° 02 (Anexo N° 4) se observan los resultados del análisis de varianza (ANOVA), que demuestra que son significativos a un nivel de confianza del 95%, que indican que si existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los grupos de tratamiento ensayados.

En el Cuadro N° 03 (Anexo N° 5) se representa la prueba de Tukey del volumen de tensión producido por efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico. El blanco y la concentración al 1% muestran cierta similitud; mientras que la concentración al 2,5%, el Dermaclín Plus® y la concentración al 5% se asemejan. Presentan la resistencia de tensión, capaz de abrir una herida cicatrizada en los ratones. Observando que a mayor tensión nos indicara una mayor cicatrización. Al producirse la herida se produce la respuesta inflamatoria que permite, induce y modula la proliferación vascular y fibroblástica. Tras estos fenómenos proliferativos se da la síntesis y maduración del colágeno que proporciona la resistencia a la tracción propia de la cicatriz (Mujica y Col., 1992).

En el Gráfico N° 02 podemos observar el porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza" donde los resultados de los diferentes tratamientos fueron: al 1% con 32,5%; al 2,5% con 92,3% y al 5% con 115,3%. El extracto hidroalcohólico al 5% posee mejor efecto cicatrizante en comparación con el control (Dermaclín plus®). Por lo que se puede señalar que a mayor concentración habrá un mayor efecto cicatrizante.

La fuerza de tensión en la cicatriz de la piel mostro que la fuerza de resistencia a la rotura se desarrolla lentamente y que la herida cicatrizada es mucho más débil que la piel intacta. Se logra la fuerza tensora gracias al depósito de colágeno y otras proteínas (Agulló, 2007).

La elección de un vehículo apropiado en preparaciones donde se administra por vía tópica tiene gran importancia. El vehículo es una sustancia terapéuticamente inerte, utilizada para conferir la forma y el volumen necesario a una preparación líquida o semisólida para el aprovechamiento conveniente, seguro y eficaz de una o más droga o principios activos contenidas en ella (Castro y Col., 2004). Por tal motivo los extractos hidroalcohólico fueron preparados bajo la forma de gel. La carboximetilcelulosa (CMC) es uno de los vehículos en polvo de elección en el tratamiento de lesiones con abundante exudado debido a su capacidad de absorber eficazmente las secreciones, además de dar propiedades adherentes y prolongar el contacto de los principios sobre la piel (Castro y Col., 2004)

Dermaclín plus® fue utilizado como estándar en la presente investigación, es un producto con un principio activo natural que permite aplicaciones para desinfección de heridas, cortes, quemaduras y otras afecciones de la piel, sin causar alergias. Contiene polifenoles cuaternarios derivados de los bioflavonoides cítricos que le dan dicho efecto (DIGEMID, 2009).

Estudios afirman que el efecto cicatrizante de la especie *Stevia rebaudiana Bertoni* "estevia" se debe a la presencia de flavonoides, metabolito que coadyuva a la cicatrización como la epigenina, campferol, y quercetina (Kinghorn., 2002). Dichos metabolitos también presenta *Rumex crispus L.* "romaza". En la fase I, se da la hemostasia, producto de la activación de los factores celulares de la sangre, de la cascada de los factores de coagulación, lo cual forma el tampón plaquetario u homeostático. La agregación plaquetaria también libera citoquinas

como los factores de crecimiento los cuales participan en el proceso de cicatrización. Por ende se podría señalar que a este nivel el metabolito que actúa podría ser los taninos por cumplir la función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y hemostática, al detener el sangrado. La cicatrización se produce por la formación de las costras al unirse las proteínas con los taninos y crear un "medio seco" que impide el desarrollo de las bacterias. Al constreñir los vasos sanguíneos ayudan a la coagulación de la sangre y, por lo tanto, contribuyen a la curación de las heridas (<http://www.botanical-online.com/medicinales/taninos.htm>.)

Mientras que en la etapa II, la inflamación las principales células en llegar a la herida son los neutrófilos y se dan las interacciones célula - célula, célula-matriz iniciando de esta manera la fagocitosis de cuerpos extraños. De igual manera las endotoxinas bacterianas liberan la Interleucina-1 de los macrófagos y estos a su vez a la IL- 8 que atraerá más neutrófilos e incrementara la destrucción tisular. Los macrófagos una vez unidos a la matriz extracelular sufren cambios y pasan de comportarse de células inflamatorias a células reparadoras, que liberan citoquinas y factores de crecimiento con un papel importante en la formación tisular, permitiendo la angiogénesis y formación el tejido granular. Los flavonoides participan en esta fase porque inhiben las actividades enzimáticas del metabolismo del ácido araquidónico por la vía de la 5- lipooxigenasa, así como sus actividades proteolítica al inhibir algunas proteasas de la matriz. Sus efectos citoprotectores, son por ejemplo, bien patentados en fibroblastos de la piel humana, queratinocitos, células endoteliales y ganglios sensoriales (Martínez y Col., 2002). De igual manera los flavonoides como la quercetina y el kaempferol son importantes para el control de las concentraciones intracelulares de glutatión, son capaces de inducir al sistema antioxidante celular en un 50%; por ser el mayor antioxidante endógeno producido por las células, participan

directamente en la neutralización de radicales libres y compuestos de oxígeno reactivo, así como el mantenimiento de los antioxidantes exógenos, como las vitaminas C y E en sus formas reducidas activas.

En un estudio se indica que los flavonoides del propóleo aceleran la cicatrización de las heridas (propóleo chino), se identificaron como principales flavonoides: la crisina, kaempferol y su derivado, el pinocembrina y galangina que son favorables por actuar sobre la respuesta inflamatoria mediada por los mastocitos, mientras que la crisina ha demostrado inhibir la producción de IL-4 en los mastocitos. La propiedad anti-inflamatoria atribuye a los flavonoides ya que estos polifenoles deben ejercer su acción hacia otra función recién descubierta de los mastocitos, incluso en asociación con otros ácidos fenólicos. La cicatrización de heridas es un proceso complejo de la lisis y la reconstitución controlada por una serie de proteínas de señalización celular y la regeneración de tejido implicado y angiogénesis. Se ha demostrado que los mastocitos desempeñan un papel importante en la etapa inicial inflamatoria de curación de heridas y proliferación influencia y la remodelación de tejidos en la piel (Chirumbolo, 2012).

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico al 2,5 y 5% de las hojas de *Rumex crispus L.* "romaza" presenta efecto cicatrizante.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus L.* "romaza" presenta metabolitos secundarios como son: alcaloides, taninos y fenoles, flavonoides, saponinas, lactonas y cumarinas, terpenos.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus L.* "romaza", administrado a una concentración de 5% presenta un mejor efecto cicatrizante en comparación con el estándar (Dermaclín Plus®).
4. La concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus L.* "romaza" al 1% y 2,5% muestra cierta similitud de efecto cicatrizante con respecto al Dermaclín Plus®; mientras que la concentración al 5% presenta mayor efecto cicatrizante.

VII. RECOMENDACIONES

1. Proseguir con el estudio del efecto cicatrizante de *Rumex crispus* L. "romaza" aislando el metabolito o la fracción responsable de este efecto y determinar su mecanismo de acción.
2. Realizar estudios de formulación de formas farmacéuticas semisólidas de *Rumex crispus* L. "romaza", para su empleo como cicatrizante.
3. Continuar con los estudios y comprobar otras propiedades farmacológicas atribuidas a esta especie vegetal.
4. Realizar estudios de toxicidad a la piel, del extracto hidroalcohólico de *Rumex crispus* L. "romaza"

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Agulló, J.** 2007. Estudio experimental de la cicatrización en artroplastia de resección de la cadera. Tesis para optar el título de doctor en medicina y cirugía. Universidad de Barcelona.
2. **Arroyo, J.; Rojas, J. y Chenguayen, J.** 2004. Manual de modelos experimentales de farmacología. Primera edición .Perú.
3. **Andrades, P.; Sepúlveda, S. y González, J.** 2004. Curación avanzada de heridas. Revista Chilena de Cirugía. Volumen 56 - Nº 4. Págs. 396-403. Accesado en: URL. [httpwww.cirujanosdechile.clRevistaPDF%20-Cirujanos%202004_04Rev.Cir.4.04.\(18\).AV.pdf](httpwww.cirujanosdechile.clRevistaPDF%20-Cirujanos%202004_04Rev.Cir.4.04.(18).AV.pdf).
4. **Baskan, S; Daut– Ozdemir, A; Gunaydin, K; Erim, F.** 2007. Analysis of anthraquinones in *Rumex crispus* by micellar electrokinetic chromatography. *Talanta*. 71(2): 747–50.
5. **Brady, R.** 1992. Curso programado de anatomía y fisiología de la piel. Editorial Limusa. México.
6. **Brack, A.** 2001. Diccionario enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Centro de estudios regionales andinos Bartolomé de las casas.
7. **Bruneton, J.** 1991. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Edit. Acribias S.A. Zaragoza, España.
8. **Bonilla, P.; Arroyo, J. y Chavez J.** 2007. Estudio fitoquímico y efecto antiulceroso del extracto acuoso de hojas de *Vallea stipularis* L.F “chillur”. *Revista de la Academia Peruana de Salud* 14(2) ,2.pg.104.
9. **Cárdenas, A.** 1993. Cicatrización de heridas. Editorial Melgarejo García Ingenieros Asociados. S.R.L. Perú.
10. **Castro, A; Orejana, L; Camero, L** 2004. Formulación Magistral en Dermocosmética. URL: antoniorondonlugo.com/blog/wpcontent/uploads/2010/03/FORMULACIONES_MAGISTRALES.pdf
11. **Cerrate, E.** 1974. Flora y vegetación del Valle de Chiquián – Ancash. UNMSM. Programa Académico de Ciencias Biológicas. Lima-Perú.
12. **Comejo, V.** 1983. Las plantas y sus utilidades. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
13. **Cotran, R; Kumar, V y Collins, T.** 2000. Patología estructural y funcional. Sexta edición. Editorial McGraw. Madrid.

14. **Chirumbolo, S.** 2012 Inflammapharmacology, University Verona, Italy
Págs. 1-7. URL:[http:// beehealthyfarms.blogspot.com/2012/03/propoli-flavonoids-accelerate-wound.html](http://beehealthyfarms.blogspot.com/2012/03/propoli-flavonoids-accelerate-wound.html).
15. **DiGEMID - Ministerio de Salud,** 2009 (511) 211- 4000.URL:http://www.digemid.minsa.gob.pe/.../12-09_DERMACLIN_PLUS.pdf
16. **Fan, J. y Zhang, Z.** 2009. Studies on the chemical Journal of Chinese Medicinal Materials. 32 (12): 1836-40.
17. **Guillermo, F; Bonilla, P y Arroyo, J.** 2005. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellaefolia* R.et P en geles aplicados a *Ratus norvegicus*. Folia dermatológica peruana, (Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales). Accesado en: URL:http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-17332005000100003.
18. **Gunaydin, K; Topcu, G; Ion, R.** 2002. 1, 5-dihydroxyanthraquinones and an anthrone from roots of *Rumex crispus*. Nat Prod Lett. 16(1): 65-70.
19. **Hinostroza, M.** 2009. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni* "estevia". Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutica UNSCH. Ayacucho.
20. **Howes E, Sooy J, Harvey S.** 1929. The healing of wounds as determined by their tensile strength. Jour A.M.A. 92(1) :42-45
21. **Kuklinski, C.** 2003. Farmacognosia; estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Primera edición. Editorial Omega S.A Barcelona. España.
22. **Litter, M.** 1988. Compendio de Farmacología. Cuarta Edición. Editorial el Ateneo. Buenos Aires - Argentina.
23. **Loja, B.** 2002. Contribución al Estudio Florístico de la Provincia de Concepción (Junín): Dicotiledónea. Tesis para optar el Título en Post Grado. UNMSM, Facultad de Ciencias Biológicas.
24. **Lock, O.** 1994. Investigación fitoquímica. Editorial Fondo P.U.C.P. Segunda Edición. Lima-Perú.
25. **Martínez, S; González, J; Culebras, J. y Tuñon, M.** 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Rev. Nutr. Hosp. XVII (6) 271-278.Universidad de León. España.

26. **Martini, M.** 2005. Introducción a la dermofarmacia y a la cosmetología. Editorial ACRIBIA S.A. Zaragoza-España.
27. **Mendoza, F.** 2010. Efecto cicatrizante del extracto alcohólico del fruto de *Sambucus peruviana* "sauco". Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho.
28. **Miranda, M. y Cuellar, A.** 2000. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad La Habana - Cuba.
29. **Maksimovic, Z; Kovacevic, N; Lakusic, B; Cebovic, T;** 2011. Antioxidant activity of yellow dock (*Rumex crispus* L., Polygonaceae) fruit extract. *Phytother Res.* 25 (1): 101-5.
30. **Mostacero J, Mejía F.** 1993. Taxonomía de fanerógamas peruanas. Editorial Libertad EIRL. Trujillo – Perú.
31. **Mujica, P; Portuga, V; Montoya, A; López, I; Bilbao, A y Mendez, J.** 1992. Metodología para el estudio de las primeras fases del proceso de cicatrización. [Monografía en línea].
URL: www.oc.lm.ehu.es/Laboratorio/Publicaciones/PDF%20articulos/1992%20CirEsp4.pdf.
32. **Oliveira, M.; Velázquez, D.; Bermúdez, A.** 2005. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, Vol. 30, N° 8, 2005, págs. 453-459.
33. **Orma, R.; Llacsahuanga, E.** 2000. Estudio del efecto cicatrizante de un gel formulado a base de *Rumex cuneifolius* *Campdera* "cutu romana". Tesis Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM. Lima-Perú.
34. **Pillaca, K.** 2008. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las flores y hojas de *Ligaria cuneifolia* "tullma". Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho.
35. **Rayna, R. Prawez, S.** 2008. Medicinal Plants and their Role in Wound Healing. *VetSan* Vol. 3 N° 1 pp 1-7.
36. **Ramírez, G** 2010. Fisiología de la cicatrización. *Revista Facultad de Salud. Universidad de Surcolombiana* vol.2 Nro. 2–69-78

37. **Rodolfo, M.** 1991. Determinación química-bromatológica de *Rumex Crispus* "acelga silvestre" del distrito de Vischongo, Ayacucho. Tesis Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH. Ayacucho-Perú.
38. **Salem, C; Pérez, J.A; Henning, E; Uherek, F; Schultz, C. Internos Butte, J. y González, P.** 2000 Heridas: conceptos generales. Artículo Docente del Instituto de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. Servicio de Cirugía, Hospital Clínico Regional de Valdivia. Cuad.cir 14:90-99.
39. **Suh, H; Lee, K; Kim, S; Shin, M; Park, S.** 2011. Determination of singlet oxygen quenching and protection of biological systems by various extracts from seed of *Rumex crispus* L. J Photochem Photobiol B. 102 (2): 102-7.
40. **Trott, A.** 2007. Heridas y cortes, tratamiento y sutura de urgencia. Editorial Elsevier. Madrid – España.
41. **Villar del Fresno, A.** 1999. Farmacognosia General. Editorial Síntesis S.A. Madrid- España.
42. **Yildirim, A; Mavi, A; Kara, A.** 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. J Agric Food Chem. 49 (8) 4083-9.
43. **Zárraga, C; Vogel, O.** 2006. *Haoa Usi Mitsana Remedio de mi tierra*, Pequeño libro de la medicina Yagan. Ediciones Kultrún, Valdivia. 22 pp
44. Search for Botanical or Plant Information. Disponible en: URL: <http://www.botanical-online.com/medicainalestaninos.htm>. Taninos. [Monografía en línea]. [accesado, 02 de setiembre del 2012].

ANEXOS

ANEXO N° 01. Certificado emitido por el Herbarium Huamangensis de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga el cual acredita la clasificación taxonómica del *Rumex crispus* L. "Romaza" Ayacucho 2012.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

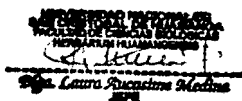
C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta., Mayeli Rosa, VARGAS YAULI, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis. Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	POLIGONALES
FAMILIA	:	POLYGONACEAE
GÉNERO	:	Rumex
ESPECIE	:	<i>Rumex crispus</i> L.
N.V.	:	"romaza", "lengua de vaca"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

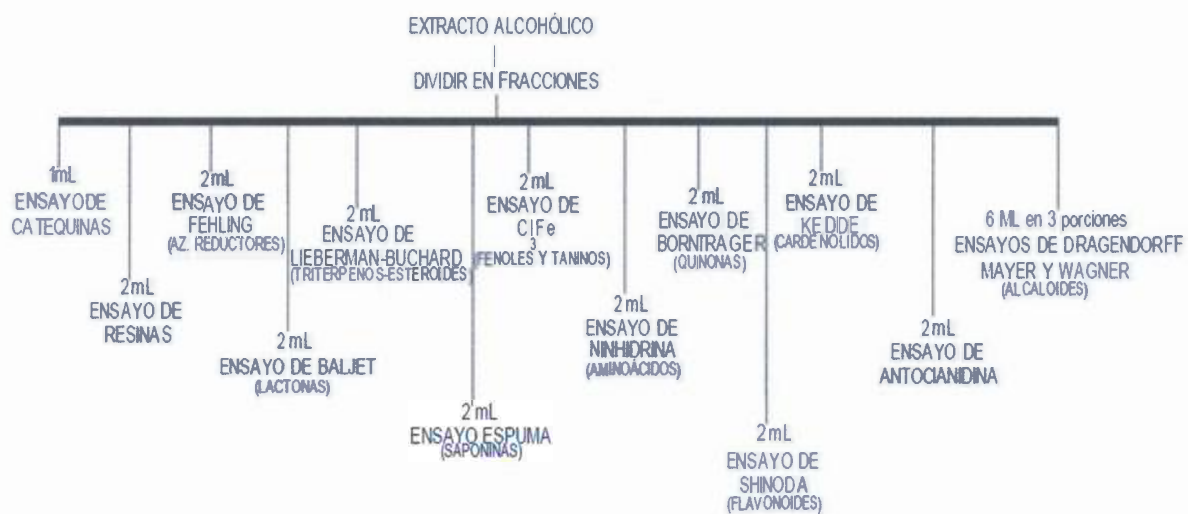
Ayacucho, 20 de Diciembre del 2011



ANEXO N° 02. Hojas recolectadas de *Rumex crispus* L. “romaza” del distrito de Huanta, Ayacucho – 2012.



ANEXO N° 03. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico (Miranda y Cuellar, 2000).



ANEXO N° 04. Análisis de varianza de la resistencia de la tensión por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza". Ayacucho– 2012.

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Resistencia a la tensión (mL)	Inter-grupos	16228.635	4	4057.159	38.332	.000
	Intra-grupos	2646.063	25	105.843		
	Total	18874.699	29			

ANEXO Nº 05. Prueba de Tukey de la resistencia de la tensión por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus L.* "romaza". Ayacucho – 2012.

Resistencia a la tensión (mL)

HSD de Tukey^a

Tratamientos	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Blanco	6	62.6333	
1%	6	79.7833	
2.5%	6		111.3000
Dermaclin	6		115.3333
5%	6		123.4167
Sig.		.056	.277

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000

ANEXO N° 08. Ratonos *Mus musculus* agrupados respectivamente para evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L "romaza". Ayacucho- 2012



ANEXO N° 09. Administración por vía intraperitoneal de pentobarbital sódico a los ratones al evaluar el efecto cicatrizante. Ayacucho- 2012



ANEXO N°10. Determinación del volumen de tensión al evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus L.* "romaza". Ayacucho- 2012



MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
<p>"Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Rumex crispus</i> L. "romaza" - Ayacucho - 2012".</p>	<p>¿Tendrá efecto cicatrizante el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Rumex crispus</i> L. "romaza"?</p>	<p>Objetivo General: Evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Rumex crispus</i> L. "romaza".</p> <p>Objetivos Específicos: -Identificar la presencia de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Rumex crispus</i> L. "romaza". -Determinar la concentración que tiene un mayor efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Rumex crispus</i> L. "romaza". -Comparar el porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Rumex crispus</i> L. "romaza" con un estándar.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Rumex crispus</i> L. "romaza" presenta efecto cicatrizante.</p>	<p>Variable Independiente: Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Rumex crispus</i> L. "romaza".</p> <p>Indicadores: Concentraciones de 1%; 2.5% y 5% del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Rumex crispus</i> L. "romaza".</p> <p>Variable Dependiente: Efecto cicatrizante</p> <p>Indicador: Resistencia a la tensión expresada en ML.</p>	<p><i>Rumex crispus</i> L. -Clasificación taxonómica -Descripción botánica <i>Rumex crispus</i> es una hierba perenne que alcanza una altura de hasta 1,0 metro de alto aproximadamente. -Propiedades y usos medicinales -Metabolitos Secundarios implicados en el proceso de cicatrización -Anatomía y fisiología de la piel humana La herida. Es toda solución de continuidad en la cubierta cutánea. Cicatrización normal de la herida. La cicatrización implica diferentes etapas, tales como: hemostasia, inflamación, proliferación o degranulación, epitelización y remodelación o contracción.</p>	<p>Nivel de Investigación. Experimental Población. Plantas de la especie <i>Rumex crispus</i> L. recolectadas en la Provincia de Huanta - Región de Ayacucho. Muestra. 1 Kg de hojas de "romaza" recolectadas al azar. Animales de experimentación: Se utilizarán 30 ratones albinos machos, de la especie <i>Mus musculus</i>, de dos meses de edad, con un peso de 20 +/- 5g que serán adquiridos del Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos - Lima. El método a utilizar es el propuesto por Howes E. Se fundamenta en la adición de la fuerza de tensión ejercida necesaria para abrir una herida incisa de un cm de longitud producida en el tercio superior del lomo del ratón. Diseño Experimental: Es el Diseño Completamente randomizado. Los ratones serán divididos de manera aleatoria en cinco grupos cada uno con repeticiones de seis ratones. Análisis Estadístico: Mediante el Análisis de Varianza (ANOVA), y de comparaciones múltiples de la Prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05</p>

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N° 469 – 2012 – FCB – D


Bach. Mayeli Rosa Vargas Yauli

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro y treinta de la tarde del día jueves veinte de diciembre del dos mil doce, bajo la presidencia por encargo del Dr. Edwin Carlos Enciso Roca, con la asistencia de los docentes: magister Hugo Roberto Luna Molero, magister Edgar Cárdenas Landeo, quien también actuará como secretario docente por encargo según memorando N° 713 – 2012 – UNSCH – FCB; para recepcionar la tesis titulada: Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza". Ayacucho 2012. Presentada por la bachiller Mayeli Rosa Vargas Yauli, quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutica.

El presidente encargado inició el acto de sustentación, cediendo la palabra a la sustentante, quien deberá exponer su trabajo de tesis en un tiempo no mayor a cuarenta y cinco minutos, luego del cual el jurado calificador procederá a realizar las observaciones y las aclaraciones y preguntas que crea conveniente para la evaluación. Luego el presidente encargado del acto de sustentación invita a la sustentante y al público en general para que abandone el auditorium dejando al jurado calificador que pueda deliberar y emitir la calificación correspondiente como sigue:

Jurado Calificador	Exposición	Respuesta	Promedio
Dr. Edwin Carlos Enciso Roca	17.0	17.0	17.0
Mg. Hugo Roberto Luna Molero	15.0	15.0	15.0
Mg. Edgar Cárdenas Landeo	17.0	17.0	17.0
	Promedio total:		16.0

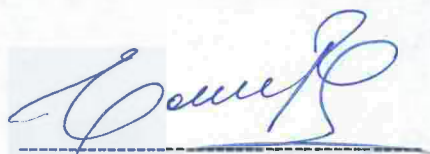
De la evaluación realizada el sustentante obtuvo la calificación promedio de DIECISEIS (16) de la cual dan fe los miembros del jurado estampando su firma al pie de la presente. Culminó el acto de sustentación siendo las seis y treinta de la tarde.



Mg. Hugo Roberto Luna Molero
Miembro



Mg. Edgar Cárdenas Landeo
Miembro – Cuarto Jurado
Secretario Docente (e)



Dr. Edwin Carlos Enciso Roca
Miembro – Presidente encargado